

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM ÜBERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07K 14/00		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/52938 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 21. Oktober 1999 (21.10.99)																					
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02463 (22) Internationales Anmeldedatum: 13. April 1999 (13.04.99) (30) Prioritätsdaten: <table><tr><td>198 16 196.4</td><td>14. April 1998 (14.04.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 25 585.3</td><td>9. Juni 1998 (09.06.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 28 097.1</td><td>24. Juni 1998 (24.06.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 31 637.2</td><td>15. Juli 1998 (15.07.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 31 639.9</td><td>15. Juli 1998 (15.07.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 31 638.0</td><td>15. Juli 1998 (15.07.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 43 279.8</td><td>22. September 1998 (22.09.98)</td><td>DE</td></tr></table> (71)(72) Anmelder und Erfinder: HASSAN, Jomaa [DE/DE]; Breslauer Strasse 24, D-35398 Giessen (DE). (74) Anwalt: PANTEN, Kirsten; Patentanwälte Reichel, Parkstrasse 13, D-60322 Frankfurt am Main (DE).			198 16 196.4	14. April 1998 (14.04.98)	DE	198 25 585.3	9. Juni 1998 (09.06.98)	DE	198 28 097.1	24. Juni 1998 (24.06.98)	DE	198 31 637.2	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE	198 31 639.9	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE	198 31 638.0	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE	198 43 279.8	22. September 1998 (22.09.98)	DE	(81) Bestimmungsstaaten: AU, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IS, JP, KR, MX, NO, NZ, PL, SG, SK, TR, US, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
198 16 196.4	14. April 1998 (14.04.98)	DE																						
198 25 585.3	9. Juni 1998 (09.06.98)	DE																						
198 28 097.1	24. Juni 1998 (24.06.98)	DE																						
198 31 637.2	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE																						
198 31 639.9	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE																						
198 31 638.0	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE																						
198 43 279.8	22. September 1998 (22.09.98)	DE																						
(54) Title: METHOD FOR IDENTIFYING CHEMICAL ACTIVE AGENTS AND ACTIVE AGENTS FOR INHIBITING THE 1-DESOXY-D-XYLULOSE-5-PHOSPHATE BIOSYNTHETIC PATHWAY (54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG CHEMISCHER WIRKSTOFFE UND WIRKSTOFFE ZUR HEMMUNG DES 1-DESOXY-D-XYLULOSE-5-PHOSPHAT-BIOSYNTHESEWEGS (57) Abstract <p>The invention relates to a method for identifying chemical active agents which are suitable for treating infectious diseases caused by single- or multi-celled parasites. According to the method, proteins which form part of the 1-desoxy-d-xylulose-5-phosphate metabolic pathway or derivatives thereof which act in the same way are brought into contact with the active agents being tested for their effectiveness against parasites and those active agents which inhibit the proteins or their derivatives are selected. The invention also relates to the active agents which are identified and to their use for producing medicaments for treating parasitic infections.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Auffinden von chemischen Wirkstoffen, die zur Therapie von Infektionskrankheiten geeignet sind, die durch ein- oder mehrzellige Parasiten hervorgerufen werden. Bei diesem Verfahren werden Proteine, die am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg beteiligt sind, oder deren gleichwirkende Derivate mit den auf ihre Wirksamkeit gegenüber Parasiten zu untersuchenden Wirkstoffen in Berührung gebracht und die Wirkstoffe, die die Proteine oder deren Derivate inhibieren, ausgewählt. Die Erfindung betrifft ferner die aufgefundenen Wirkstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln gegen parasitäre Infektionen.</p>																								

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Letland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verfahren zur Identifizierung chemischer Wirkstoffe und
Wirkstoffe zur Hemmung des 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-
Biosynthesewegs

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Identifikation von Wirkstoffen, die zur Behandlung von parasitären Erkrankungen verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten geeignet sind. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie. Weiter betrifft die Erfindung Proteine, sowie Teilstücke von Proteinen, ferner DNA-Sequenzen, die diese Proteine bzw. Teilstücke dieser Proteine kodieren, die Verwendung dieser DNA-Sequenzen, dieser Proteine oder ihrer Teilstücke zur Identifizierung von Stoffen mit Wirkung gegen ein- oder mehrzellige Parasiten, sowie die auf diesem Weg identifizierten Wirkstoffe und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln.

Der Begriff Parasiten beinhaltet einzellige Parasiten und mehrzellige Parasiten einschließlich Helminthen und Anthropoden. Diese verursachen Infektionserkrankungen bei Mensch und Tier. Im Sinne dieser Erfindung ist die streng wissenschaftliche Definition von Parasiten anzuwenden, d.h. unter einzelligen Parasiten sind Protozoen zu verstehen.

Es existiert bereits eine Vielzahl von Mitteln gegen parasitäre Erkrankungen. Die vorhandenen Mittel werden durch

die sich rasch entwickelnden Resistenzen gegen diese Mittel bereits unbrauchbar für die Therapie von Mensch und Tier. So sind bereits viele Regionen von Malariaparasiten befallen, die gegen Standard-Medikamente wie Chloroquin resistent sind. Auch sind Berichte über Resistenz-Entwicklung gegen Standard-Mittel (Praziquantel) zur Behandlung der Bilharziose bekannt. Diese Resistenzentwicklungen und andere Faktoren haben dazu geführt, daß Malaria und Bilharziose bereits zu den häufigsten Erkrankungen in den Tropen gezählt werden. Geschätzte 300-500 Millionen Menschen sind an Malaria erkrankt. 2-2,5 Millionen Menschen sterben im Jahr an Malaria. Weiter sind neue Medikamente wie Mefloquin sehr teuer in der Herstellung und sehr nebenwirkungsreich. Es besteht daher ein großer Bedarf an Arzneimitteln zur Therapie von Mensch und Tier.

Es gab in der Vergangenheit viele Ansätze zur Entwicklung von Chemotherapeutika gegen Parasiten, insbesondere gegen Krankheitserreger der Malaria und der Bilharziose. Einer dieser Ansätze befaßt sich mit der Inhibition der sogenannten Isoprenoidbiosynthese. Isoprenoide sind Moleküle, die aus einzelnen Isopreneinheiten (Isopentenylidiphosphat) gebildet werden, und wichtige Funktionen in der Zelle übernehmen. Hierzu gehören Sterole, Ubichinone und andere Moleküle, die für den Haushalt der Parasiten wichtig sind. Die Vorgehensweise basierte hierbei auf einem Modell, das in Pilzen und in Säugerzellen etabliert wurde. In Pilzen und in Säugerzellen entsteht die Untereinheit Isopentenylidiphosphat auf der Basis der Kondensation von drei Molekülen Acetyl-CoA zu HMG-CoA. HMG-CoA wird dann von der HMG-CoA-Reduktase zu Mevalonat umgewandelt, welches dann mit Mevalonat-Phosphat als Zwischenstufe zu Isopentenylidiphosphat umgewandelt wird (siehe Figur 7). Inhibitoren der HMG-

CoA-Reduktase wie zum Beispiel Lovastatin, Simvastatin und Pravastatin wurden zur Inhibition des Wachstums der Parasiten verwendet. Bei Malaria gelang es zwar, unter Anwendung sehr hoher Dosen Lovastatin und Simvastatin eine in vitro Inhibition zu erreichen, jedoch mißlang die Inhibition in vivo. Die Behandlung Schistosoma-infizierter Mäuse mit Lovastatin führte zu einer Inhibition der Eiablage dieser Würmer, jedoch mußten sehr hohe Konzentrationen an Lovastatin aufgewendet werden, um einen Teil der Würmer in vivo zu töten.

Es wurde nun überraschend gefunden, daß Parasiten, insbesondere Plasmodien und Trypanosomen (Verursacher der Malaria und der Schlafkrankheit) zumindest einen weiteren Stoffwechselweg zur Synthese von Isoprenoiden besitzen. Dieser Stoffwechselweg beruht auf einer Kondensation von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat (DOXP). DOXP wird dann umgewandelt zu 2-C-Methyl-D-erythrose-4-Phosphat, das dann mit 2-C-Methyl-erythrithol-4-Phosphat als Zwischenstufe zu Isopentenyl-diphosphat umgewandelt wird. An diesem Stoffwechselweg sind unter anderem die Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase beteiligt (Siehe Figur 7). Dieser Stoffwechselweg war bisher nur in Pflanzen, in Algen und in einigen Bakterien beschrieben worden (Sprenger et al. PNAS, 94 (1997) 12857-62 und Kuzuyama et al. Tetrahedron Letters 39 (1998) 4509-12).

Die Inhibition des oben beschriebenen DOXP-Stoffwechselwegs, insbesondere der Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase durch die dem Fachmann bekannten Techniken eignet sich zur Vorbeugung und Behandlung von Infektionen, verursacht durch ein- und mehrzellige Parasiten bei Mensch

und Tier. Da dieser Stoffwechselweg nicht im Menschen vorhanden ist, eignet er sich hervorragend als Ziel für eine gezielte Chemotherapie von Parasiten. Insbesondere eignen sich die Enzyme Desoxyxylulose-5-Phosphat-Synthase und Desoxyxylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase als Ziel für eine Chemotherapie. Besonders nebenwirkungsarm und geeignet zeigte sich die Inhibition des Enzyms Desoxyxylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase von Malaria, da der Mensch weder über Substrate und deren Vorstufen noch über das Produkt des Enzyms noch über das Enzym selbst verfügt.

Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zum Auffinden von Wirkstoffen, die den DOXP-Stoffwechselweg hemmen, und diese Wirkstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln für die Therapie und Prophylaxe von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, ein neues Verfahren zur Identifikation von Wirkstoffen zur Therapie von parasitären Erkrankungen bei Mensch und Tier bereitzustellen. Eine weitere Aufgabe besteht darin, ein Verfahren zur Auffindung eines Medikamentes zu entwickeln, das selektiv den Erreger abtötet und nebenwirkungsarm ist.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren gemäß Anspruch 1 realisiert. Die Erfindungsverfahren und ermittelten Wirkstoffe sind dadurch gekennzeichnet, daß

- die Isoprenoidbiosynthese im sogenannten 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg gehemmt wird.

Alle beschriebenen Stoffwechselwege sind nicht in Mensch und Tier vorhanden, sondern nur in Pflanzen, Algen, manchen

Eubakterien und in Parasiten, wie zum Beispiel Malariaparasiten; daher zeichnet sich diese Therapie-Strategie als sehr nebenwirkungsarm aus.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin Enzyme, die an diesem Stoffwechselweg beteiligt sind, sowie Teilstücke dieser Enzyme. Diese Enzyme sind zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Identifikation von Wirkstoffen geeignete Proteine. Die vorliegende Erfindung betrifft weiter DNA-Sequenzen, die diese Enzyme kodieren, bzw. Teilstücke dieser Enzyme.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und Antikörper zur Identifizierung der Enzyme oder ihrer Teilstücke, sowie die Herstellung der Enzyme oder ihrer Teilstücke über rekombinante Technologie.

Die Erfindung betrifft weiter die Verwendung dieser Enzyme oder ihrer Teilstücke, oder die Verwendung der DNA-Sequenzen, die diese Enzyme kodieren, bzw. Teilstücke dieser Enzyme zur Identifizierung von Stoffen mit Wirkung gegen ein- oder mehrzellige Erreger.

Die Erfindung betrifft weiter Wirkstoffe, die mit Hilfe der erfindungsgemäßen Enzyme aufgefunden werden.

Im folgenden wird die Erfindung anhand der beiliegenden Zeichnungen genauer beschrieben.

Es zeigen:

Fig. 1a die Nukleotid-Sequenz des Gens, das das Protein 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aus *Plasmodium falciparum* codiert,

Fig. 1b die Nukleotid-Sequenz des Gens, das die 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase aus *Plasmodium falciparum* codiert,

Fig. 2a die Nukleotid-Sequenz des Gens, die 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aus *Plasmodium falciparum* codiert und die entsprechende Aminosäure-Sequenz

Fig. 2b die Nukleotid-Sequenz des Gens, die 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase aus *Plasmodium falciparum* codiert und die entsprechende Aminosäure-Sequenz,

Fig. 3a die Aminosäure-Sequenz des Proteins 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aus *Plasmodium falciparum*,

Fig. 3b die Aminosäure-Sequenz des Proteins 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase aus dem Parasiten *Plasmodium falciparum*,

Fig 4a einen Ausschnitt aus der Nukleotid-Sequenz nach Fig. 1b,

Fig. 4b einen Ausschnitt aus der Nukleotid-Sequenz mit der entsprechenden Aminosäuresequenz nach Fig. 2b,

Fig. 4c einen Ausschnitt aus der Aminosäure-Sequenz nach Fig. 3b,

Fig. 5 In-vivo-Daten für die Parasitämie-Werte nach 4-tägiger Therapie mit jeweils drei Dosen der Stoffe:

Formyl, das 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz entspricht, und

Acetyl, das 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz entspricht,

Fig. 6a die Inhibition des Wachstums von *P. falciparum* nach Zugabe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (offene Kreise) und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (geschlossene Kreise) für den Stamm HB3,

Fig. 6b die Inhibition des Wachstums von *P. falciparum* nach Zugabe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (offene Kreise) und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (geschlossene Kreise) für den Stamm A2, und Fig. 6c die Inhibition des Wachstums von *P. falciparum* nach Zugabe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (offene Kreise) und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (geschlossene Kreise) für den Stamm Dd2, und

Fig. 7 den klassischen Acetat/-Mevalonat-Biosyntheseweg im Vergleich zum alternativen DOX-P-Biosyntheseweg.

Mittels genetischer Verfahren wurden die kodierenden Gene der Enzyme DOXP-Synthase, und DOXP-Reduktoisomerase nachgewiesen (Figuren 1a, 1b, 2a, 2b). Nach Anreicherung durch die Polymerase-Ketten-Reaktion aus dem Genom von *P. falciparum* wurden diese Gene in bakteriellen Plasmiden kloniert und ihre Nukleotidsequenz bestimmt. Die Sequenzdaten zeigten eine hohe Homologie dieser Gene mit den entsprechenden Genen aus Algen, Pflanzen und Bakterien. Die sehr hohen Homologien zeigten, daß die drei Gene die Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase von *P. falciparum* codieren.

Nach Expression in heterologen Systemen wurden die Enzyme als rekombinante Proteine gereinigt und für Aktivitätsstudien in zellfreien Systemen eingesetzt. Die Aktivität der DOXP-Synthase wurde durch Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat gemessen. Die Aktivität der DOXP-Reduktoisomerase wurde durch Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-

D-erythritol-4-Phosphat in Gegenwart von NADPH gemessen. Die Messung der Veränderung der NADPH-Konzentration erfolgt über eine Parametervariation. Dieses Verfahren ist dem Fachmann bekannt.

Die Enzyme können über die sie codierende DNA-Sequenz (Figuren 1a, 1b, 2a, 2b) und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz (Figuren 3a und 3b) definiert werden. Die Enzyme der einzelnen Parasiten können sich jedoch von Parasit zu Parasit unterscheiden. Solche Variationen der Aminosäuren sind in der Regel Aminosäureaustausche. Es kann sich aber auch um Deletionen, Insertionen und Additionen von Aminosäuren zur Gesamtsequenz handeln. Die erfindungsgemäßen Enzyme können - sowohl im Umfang und Art abhängig von der Zelle und Zelltyp, in dem sie exprimiert werden - glycosyliert oder nicht glycosyliert sein.

Die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilstücke dieser Enzyme werden durch Expression der erfindungsgemäßen DNA in geeigneten Expressionssystemen, beispielsweise in Bakterien, insbesondere in *E. coli*, als prokaryontisches Expressionssystem oder in einem eukaryontischen Expressionssystem, insbesondere COS-Zellen oder *Dictyostelium discoideum*, hergestellt.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz ist es möglich, im Genom von beliebigen Parasiten die kodierenden Gene oder deren Varianten zu suchen, diese zu identifizieren und die gewünschten kodierenden Gene für die Enzyme zu isolieren. Derartige Verfahren und die hierfür geeigneten Screening-Methoden sind dem Fachmann bekannt.

Durch die Anwendung der rekombinanten Technologie ist es möglich, eine Vielzahl von Varianten von Enzymen oder Teilstücke von Enzymen herzustellen. Derartige Derivate können beispielsweise in einzelnen oder mehreren Aminosäuren durch Substitution, Deletion oder Addition modifiziert sein. Die Derivatisierung kann beispielsweise über site directed mutagenesis (ortsspezifische Mutagenese) erfolgen. Derartige Variationen sind für einen Fachmann ohne weiteres durchführbar. Es muß lediglich sichergestellt sein, daß die charakteristischen Eigenschaften der Enzyme erhalten bleiben. Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung sind deshalb die Enzyme, die am DOXP-Stoffwechselweg beteiligt sind, insbesondere DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase, die

- a) das Produkt einer prokaryontischen oder eukaryontischen Expression einer exogenen DNA sind,
- b) codiert werden von einer Sequenz in Figuren 1a, 1b, 2a und 2b
- c) codiert werden von DNA-Sequenzen, die mit den in Figuren 1a, 1b, 2a und 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen (siehe z.B. Figuren 4a und 4b) im DNA-Bereich, der das reife Protein kodiert, hybridisieren, oder
- d) codiert werden von DNA-Sequenzen, die ohne die Degeneration des genetischen Codes mit den in b) bis c) definierten Sequenzen hybridisieren würden und ein Polypeptid mit derselben Aminosäuresequenz kodieren.

Bevorzugt sind Enzyme, welche von den Nukleotiden aus Figuren 1a, 1b, 2a und 2b oder von DNA-Sequenzen, die aufgrund der Degeneration des genetischen Codes ein Polypeptid mit derselben Aminosäuresequenz codieren wurden, codiert werden.

Die beiden erfindungsgemäßen Enzyme (Sequenz in Figuren 3a und 3b) können als neue Prototypen von spezifischen Proteinen ein- und mehrzelliger Parasiten, insbesondere der einzelligen Parasiten angesehen werden.

Ein Gegenstand dieser Erfindung sind Nukleinsäuresequenzen, welche die Enzyme kodieren und ausgewählt sind aus der Gruppe

- a) der in den Figuren 1a, 1b, 2a, und 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder deren komplementäre Sequenzen,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die mit einer der Sequenzen von a) hybridisieren,
- c) Nukleinsäuresequenzen, die ohne die Degeneration des genetischen Codes mit einer der in a) oder b) genannten Sequenzen hybridisieren würden.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Enzyme aus beliebigen Parasiten, welche im wesentlichen Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat kondensieren (DOXP-Synthase) und 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat umsetzen (DOXP-Reduktoisomerase). Diese den Enzymen aus Malaria-Parasiten analogen Enzyme können dadurch erhalten werden, daß mit einer Hybridisierungsprobe, die Enzyme aus Malaria-Parasiten codierende Sequenzen enthält, eine cDNA-Bibliothek oder genomische Bibliothek des entsprechenden Parasiten nach dem Fachmann geläufigen Methoden gescreent wird oder über den Sequenzvergleich der DNA und Proteinsequenz für Enzyme von Malaria-Parasiten mit anderen Parasiten-Enzymen.

Mit Hilfe der Nukleinsäuren können erfindungsgemäße Enzyme in reproduzierbarer Weise in großen Mengen gewonnen werden. Zur Expression in prokaryontischen und eukaryontischen Organismen wird die Nukleinsäure nach dem Fachmann geläufigen Verfahren in geeignete Expressionsvektoren integriert. Vorzugsweise enthält ein solcher Expressionsvektor einen regulierbaren/induzierbaren Promotor. Zur Expression werden diese rekombinanten Vektoren dann nach bekannten Verfahren in geeignete Wirtszellen eingeführt und die transformierten, transfizierten bzw. transduzierten Wirtszellen unter Bedingungen kultiviert, die eine Expression des heterologen Gens ermöglichen. Als Wirtszellen eignen sich prokaryontische Zellen, wie z.B. *E. coli*, und eukaryontische Zellen, insbesondere Hefen (z.B. *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia pastoris*), Insektenzellen (z.B.: Zelllinien von *Drosophila melanogaster* wie S2-Zellen, *Spodoptera frugiperda*, *Trichoplusia ni*), Wirbeltierzelllinien, vor allem Teratokarzinoma-Zelllinien wie CHO- oder COS-Zellen, und pflanzliche Zelllinien.

Die erfindungsgemäßen Enzyme können auch in transgenen Pflanzen und Tieren (z.B. Mäuse, Schafe, Ziegen, Schweine, Meerschweinchen) exprimiert werden. Das Expressionssystem ist dabei vorteilhafterweise durch dem Fachmann bekannte Techniken so zu gestalten, daß die produzierten Enzyme mit der Milch der Tiere ausgeschieden werden bzw. aus leicht zu gewinnenden Pflanzenteilen (Früchten, Blättern, Blüten, Sproß- und Wurzelteilen) erhalten werden können.

Als Expressionsvektoren für Wirbeltierzelllinien eignen sich besonders Systeme, die von Papillomaviren (z.B. SV40), Retroviren, Sindbisviren, Cytomegaloviren und Vacciniaviren abgeleitet sind. Für Insektenzellen eignet sich besonders

das Baculovirus-System, für Pflanzenzellen Systeme auf der Basis des Ti-Plasmids von *Agrobacterium tumefaciens* und der Beschuß der Zellen mit Nukleinsäure überzogenen Partikeln.

Von besonderer Bedeutung ist die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme in Schleimpilzen wie *Dictyostelium discoideum*, *Polysphondylium pallidum* und *Physarum polycephalum*, da ihre Zellen kostengünstig in großen Mengen auf einfachen Medien kultiviert werden können. Die Verwendung von *Dictyostelium discoideum* bietet den weiteren Vorteil, daß dieser Organismus ähnliche Codone für die jeweiligen Aminosäuren benutzt wie *Plasmodium falciparum* und dadurch eine besonders effektive Produktion der erfindungsgemäßen Enzyme erreicht wird. Außerdem sind induzierbare Promotoren (z.B. durch Nahrungsmangel) für Expressionsvektoren für *Dictyostelium discoideum* bekannt. Dadurch kann die Ausbeute an rekombinantem Enzym weiter gesteigert werden.

Für die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme eignen sich besonders solche Wirtszellen und Organismen, die keine intrinsischen Enzyme besitzen, die Pyruvat und Glyceraldehyd-3-Phosphat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat kondensieren (DOXP-Synthase) und 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat umsetzen (DOXP-Reduktoisomerase). Dies trifft für Archaeobakterien, Tiere, Pilze, Schleimpilze und einige Eubakterien zu. Durch das Fehlen dieser intrinsischen Enzymaktivitäten wird die Detektion und Aufreinigung der rekombinanten Enzyme wesentlich erleichtert. Auch wird es erst dadurch möglich, mit geringem Aufwand die Aktivität und insbesondere die Hemmung der Aktivität der erfindungsgemäßen rekombinanten Enzyme durch verschiedenen Chemikalien und Pharmaka in Rohextrakten aus den Wirtszellen zu messen.

Die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme erfolgt vorteilhafterweise dann in eukaryontischen Zellen, wenn post-translatorische Modifikationen und eine native Faltung der Polypeptidkette erreicht werden soll. Außerdem wird in Abhängigkeit vom Expressionssystem bei der Expression genomischer DNA-Sequenzen erreicht, daß Introns durch Spleißen der DNA beseitigt und die Enzyme in der für die Parasiten charakteristischen Polypeptidsequenz produziert werden. Introns codierende Sequenzen können auch durch rekombinante DNA-Technologie aus den zu exprimierenden DNA-Sequenzen beseitigt oder experimentell eingefügt werden.

Die Isolierung des Proteins kann aus der Wirtszelle oder dem Kulturüberstand der Wirtszelle nach dem Fachmann bekannten Verfahren erfolgen. Es kann auch eine in vitro Reaktivierung der Enzyme erforderlich sein.

Zur Erleichterung der Aufreinigung können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit verschiedenen Peptidketten exprimiert werden. Dazu eignen sich besonders Oligo-Histidin-Sequenzen und Sequenzen, die von der Glutathion-S-Transferase, Thioredoxin oder Calmodulin-bindenden Peptiden abgeleitet sind. Fusionen mit Thioredoxin-abgeleiteten Sequenzen eignen sich besonders für prokaryontische Expression, da dadurch die Löslichkeit der rekombinanten Enzyme erhöht wird.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit solchen, dem Fachmann bekannten, Peptidketten exprimiert werden, daß die rekombinanten Enzyme in das extrazelluläre Milieu oder in bestimmte Kompartimente der Wirtszellen transportiert wer-

den. Dadurch kann sowohl die Aufreinigung, als auch die Untersuchung der biologischen Aktivität der Enzyme erleichtert werden.

Bei der Expression der erfindungsgemäßen Enzyme kann es sich als zweckmäßig erweisen, einzelne Codone zu verändern. Dabei ist der gezielte Austausch von Basen in der kodierenden Region auch sinnvoll, wenn die genutzten Codone in den Parasiten abweichend sind von der Codonnutzung im heterologen Expressionssystem, um eine optimale Synthese des Proteins zu gewährleisten. Zudem sind oft Deletionen von nicht-translatierten 5' bzw. 3'-Abschnitten sinnvoll, beispielsweise wenn mehrere destabilisierende Sequenzmotive ATTTA im 3'-Bereich der DNA vorliegen. Dann sollten diese bei der bevorzugten Expression in Eukaryonten deletiert werden. Veränderungen dieser Art sind Deletionen, Additionen oder Austausch von Basen und ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme unter standardisierten Bedingungen durch dem Fachmann bekannte Techniken durch in vitro-Translation gewonnen werden. Dafür geeignete Systeme sind Kaninchen-Reticulozyten- und Weizenkeim- Extrakte. Auch kann in vitro transskribierte mRNA in Xenopus-Oocyten translatiert werden.

Durch chemische Synthese können Oligo- und Polypeptide hergestellt werden, deren Sequenzen aus der Peptidsequenz der erfindungsgemäßen Enzyme abgeleitet sind. Bei geeigneter Wahl der Sequenzen besitzen derartige Peptide Eigenschaften, die für die vollständigen erfindungsgemäßen Enzyme charakteristisch sind. Derartige Peptide können in großen Mengen hergestellt werden und eignen sich besonders für

Studien über die Kinetik der Enzymaktivität, die Regulation der Enzymaktivität, die dreidimensionale Struktur der Enzyme, die Hemmung der Enzymaktivität durch verschiedene Chemikalien und Pharmaka und die Bindungsgeometrie und Bindungsaffinität verschiedener Liganden.

Vorzugsweise wird zur rekombinanten Herstellung der erfindungsgemäßen Enzyme eine DNA mit den Nukleotiden aus den in den Figuren 1a, 1b, 2a und 2b dargestellten Sequenzen oder ein Fragment gemäß den Figuren 4a und 4b verwendet.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Verfahren zur Gewinnung der Enzyme, die beteiligt sind am DOXP-Stoffwechselweg, insbesondere die Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase durch Isolierung aus den Parasiten. Die Isolierung der Enzyme erfolgt aus Parasiten-Extrakten über chromatographisch, elektrophoretische und andere dem Fachmann bekannte Verfahren. Die Enzyme werden mittels Messung der jeweiligen enzymatischen Aktivität oder Reaktivität mit entsprechenden Antikörpern ermittelt.

Der Nachweis von transformierten, transfizierten bzw. transduzierten Wirtszellen, welche die Enzyme rekombinant produzieren, sowie die Aufreinigung des Proteins erfolgen vorzugsweise über Antikörper, die an diese Enzyme binden. Derartige Antikörper sind mit Hilfe der erfindungsgemäßen Enzyme oder Teile der Enzyme als Antigen oder Immunogen in einfacher Weise nach bekannten Verfahren erhältlich.

Mit den erfindungsgemäßen Antikörpern gegen die Proteine können beispielsweise durch Western-Blotting-Analysen homologe bzw. kreuzreagierende Proteine anderer Parasiten detektiert werden.

Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung sind Methoden zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität der DOXP-Enzyme, insbesondere der Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase. Dies kann nach den bekannten Anleitungen bestimmt werden (Sprenger et al. PNAS, 94 (1997) 12857-62 und Kuzuyama et al. Tetrahedron Letters 39 (1998) 4509-12). Hierbei wird die Kondensation von Pyruvat und Glyceraldehyd-3-Phosphat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat (DOXP-Synthase) und die Umwandlung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat (DOXP-Reduktoisomerase) detektiert. Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung ist die Verwendung dieser Meßverfahren zur Ermittlung von Stoffen, die die Aktivität der jeweiligen Enzyme inhibieren.

Durch die Anwendung der rekombinanten Technologie ist es möglich, eine Vielzahl von Varianten von Enzymen oder Teilstücken von Enzymen herzustellen. Derartige Derivate können beispielsweise modifiziert sein in einzelnen oder mehreren Aminosäuren durch Substitution, Deletion oder Addition. Die Derivatisierung kann beispielsweise über site directed mutagenesis (ortsspezifische Mutagenese) erfolgen. Derartige Variationen sind für einen Fachmann ohne weiteres durchführbar. Es muß lediglich sichergestellt sein, daß die charakteristischen Eigenschaften der Enzyme erhalten bleiben.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Enzyme und ihrer Homologen können neue spezifische Wirkstoffe gegen Parasiten gefunden werden.

Insbesondere können die oben beschriebenen Detektionsmethoden in geeigneten Testkits zum Screening auf antipara-

sitäre Wirkung von Stoffen verwendet werden. Hierzu gehören Methoden, die dem Fachmann bekannt sind und sich zum Screening von Naturstoffen aus Flora und Fauna, aus Pflanzen, Algen, Bakterien oder Tieren eignen, und deren Derivate, chemischen Bibliotheken, auch Bibliotheken, die mittels dem Fachmann bekannter Techniken, einschließlich der kombinatorischen Chemie erstellt wurden (Pindur et al. Pharmazie in unserer Zeit 26 (1997) 24-30; Broach et al. Nature 384 (1997) 14-6; Lack et al. Chimia 50 (1996) 445-7; Czarnik und Ellmann Accounts of chemical research 29 (1996); Chemical and engineering News 74 (1996) 28-73; Lorin et al. Chemical reviews 96 (1996) 555-600; Weber et al. Nachrichten aus Chemie, Technik und Laboratorium 42 (1994) 698-702).

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die Verwendung von Proteinen oder Teilstücken dieser Proteine, hierzu gehören Proteine oder Teilstücke von Proteinen mit oder auch ohne enzymatischer Aktivität in dem Fachmann bekannten Techniken zur Ermittlung von Strukturen des Proteins, insbesondere die Charakterisierung der Bindungsstellen, die sich für die Entwicklung von Mitteln mit inhibierender Wirkung auf die enzymatische Aktivität eignen.

Wirkstoffe die mit Hilfe der erfindungsgemäßen Proteine aufgefunden werden, sind für die Medizin und der Tiermedizin von hohem Interesse.

Die Wirkstoffe, die mit Hilfe der erfindungsgemäßen Proteine gefunden werden, eignen sich bei günstiger Warmblütertoxizität zur Bekämpfung von pathogenen Parasiten, die bei Menschen und in der Tierhaltung und Tierzucht bei Nutz-, Zucht-, Zoo-, Labor-, Versuchs- und Hobbytieren vorkommen.

Sie sind dabei gegen alle oder einzelne Entwicklungsstadien der Schädlinge, sowie gegen resistente und normal sensible Parasiten wirksam. Durch die Bekämpfung der Parasiten sollen Krankheiten, Todesfälle und Leistungsminderungen (z.B. bei der Produktion von Fleisch, Milch, Wolle, Häuten, Eiern usw.) vermindert werden, so daß der Einsatz der Wirkstoffe eine wirtschaftlichere und einfachere Tierhaltung möglich ist.

Unter Verwendung dieser erfindungsgemäßen Verfahren einschließlich der etablierten Assays (Ansätze) konnte gezeigt werden, daß die Aktivität der DOXP-Reduktoisomerase durch 3-(N-acetyl-N-hydroxyamino)propylphosphonat und derivative 3-(N-formyl-N-hydroxyamino)propylphosphonat (fosmidomycin) gehemmt wird. Beide Substanzen stammen aus einer chemischen Library von Acylhydroxylaminoalkylphosphonsäurederivaten. Diese Verbindungsgruppe wurde in der Vergangenheit als herbizid und als bakterizid beschrieben (US 4693742, DE2733658). Hier zeigte sich die Effizienz des Systems für das Auffinden von antiparasitären Wirkstoffen. Die Ergebnisse aus den Enzymassays konnten auch in der Malariakultur (siehe Beispiele) und im Tierversuch (siehe Beispiele) bestätigt werden. Die mittels dieser Enzymassays ermittelten Inhibitoren konnten das Wachstum von Malariaparasiten in vitro und in vivo hemmen. Eine Behandlung der Tiere über einem Zeitraum von 8 Tagen zeigte eine Heilung der Tiere. Hier zeigte die Acetylform eine dreifach höhere Wirksamkeit als die Formylform. Dieses Ergebnis ist sehr überraschend, da wesentlich höhere (bis zu 1000x) Konzentrationen 3-(N-acetyl-N-hydroxyamino)propylphosphonat benötigt werden, um das Bakterienwachstum zu hemmen.

Damit sind das erfindungsgemäße Verfahren zur Identifizie-

zung von Wirkstoffen und die erfindungsgemäßen Wirkstoffe zur therapeutischen und prophylaktischen Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier geeignet, die durch Parasiten, Pilze oder Viren hervorgerufen werden. Die Verbindungen sind als Prophylaxe gegen sowie zur Behandlung von Infektionen, hervorgerufen durch Erreger der Malaria und der Schlafkrankheit sowie der Chagas-Krankheit, der Toxoplasmose, der Amöbenruhr, der Leishmaniosen, der Trichomoniasis, der Pneumozystose, der Balantidiose, der Kryptosporidiose, der Sarkozystose, der Akanthamöbose, der Naeglerose, der Kokzidiose, der Giardiose und der Lambliose geeignet.

Die erfindungsgemäßen Verfahren und erfindungsgemäßen Wirkstoffe eignen sich besonders zur Behandlung der Malaria, der Schlafkrankheit und der Leishmaniosen.

Die erfindungsgemäßen Wirkstoffe eignen sich auch zur Inhibition des Stoffwechselwegs von Bakterien, und von Pflanzen. Damit eignen sich Substanzen, die erfindungsgemäß als Inhibitoren des DOXP-Stoffwechselweges identifiziert werden, auch zur Anwendung als Herbizide und zur Anwendung bei der Behandlung von bakteriellen Infektionen bei Mensch und Tier.

Zu den für eine Behandlung geeigneten Nutz- und Zuchttieren gehören Säugetiere, wie z.B. Rinder, Pferde, Schafe, Schweine, Ziegen, Kamele, Wasserbüffel, Esel, Kaninchen, Salz- und Süßwasserfische, wie z. B. Forellen, Karpfen und Aale. Zu den geeigneten Labor- und Versuchstieren gehören Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Goldhamster, Hunde, Katzen und Schweine. Zu den geeigneten Hobbytieren gehören Hunde und Katzen. Die Anwendung kann sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch erfolgen. Die Anwendung der Wirkstoffe

erfolgt direkt oder in Form von geeigneten, dem Fachmann bekannten Zubereitungen wie enteral, parenteral, dermal oder nasal.

Die erfindungsgemäßen Wirkstoffe können in Kombination mit allen dem Fachmann bekannten Antiinfektiva verwendet werden. Hierzu gehören Substanzen, die antibakterielle, antiparasitäre, antivirale oder fungizide Wirkungen haben. Hierzu gehören Antiinfektiva, die in der Roten Liste und in der Fachliteratur (Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie von Forth et al. BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim 1998; Antibiotikatherapie von Simon und Stille, Schattauer-Verlag, Stuttgart 1993) aufgeführt sind.

Da einige Parasiten sowohl über dem Mevalonat-Stoffwechselweg, als auch über dem DOXP-Stoffwechselweg verfügen, betrifft die Erfindung weiter die Kombination von Inhibitoren des DOXP-Stoffwechselweges mit Mitteln, die den Fettstoffwechselweg inhibieren, einschließlich Inhibitoren der Synthese oder der Aufnahme von Lipiden, insbesondere Inhibitoren des Mevalonat-Stoffwechselweges. Hier seien insbesondere die Inhibitoren der Enzyme HMG-CoA-Synthase und Inhibitoren der HMG-CoA-Reduktase genannt. Zu den Inhibitoren der HMG-CoA-Reduktase zählen insbesondere Lovastatin und Derivate, Mevastatin und Derivate, Compactin und Derivate, Simvastatin und Derivate, Pravastatin und Derivate, Atorvastatin und Derivate, Fluvastatin und Derivate und Cerivastatin und Derivate.

Beispiel 1

Expressionsklonierung des die DOXP-Reductoisomerase codierenden Gens von *P. falciparum*.

Die Klonierung des die DOX-Reductoisomerase von *P. falciparum* codierenden Gens erfolgte durch PCR-Amplifikation der entsprechenden Sequenzen von genomischer DNA als Matrize. Zur Gewinnung von genomischer DNA wurde der *P. falciparum*-Stamm HB3 nach der Kerzentopf-Methode kultiviert (Tranger und Jensen (1976), Science 193, 673-675). Als Kulturmedium wurde RPMI 1640 (mit HEPES und L-Glutamin, Gibco) mit 10 % humanem Serum, 0.3 µg / ml Gentamycin und 0.1 mM Hypoxanthin supplementiert und mit humanen Erythrozyten ein Hämatokrit von 5 % eingestellt. Für die Präparation der DNA wurden 15 Kulturschalen mit je 35 ml Kulturvolumen bei ca. 4 % Parasitämie verwendet. Die infizierten Erythrozyten wurden durch Zentrifugation geerntet und zweimal in Trager-Puffer (57 mM NaCl, 58 mM KCl, 1 mM NaH₂PO₄, 7 mM K₂HPO₄, 11 mM NaHCO₃, 14 mM Glucose) gewaschen. Die Parasiten wurden aus den Erythrozyten freigesetzt, indem das Zellsediment mit einem 10fachen Volumen 1 %iger Saponinlösung in Trager-Puffer für 5 min auf Eis lysiert wurde (modifiziert nach Kilejian (1979), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 4650-4653). Die freien Parasiten wurden zweimal durch Zentrifugation (10 min, 10.000 rpm, 4 °C) mit einer Lösung von 1 % BSA in Trager-Puffer gewaschen. Die DNA-Präparation aus den gewonnenen freien Parasiten erfolgte nach Standardprotokollen. Zunächst wurden die Parasiten mit Proteinase K verdaut. Dann wurde der Ansatz viermal mit Phenol / Chloroform extrahiert, die DNA-Lösung über Nacht gegen TE dialysiert und anschließend mit Isopropanol präzipitiert. Für die PCR-Amplifikation wurden folgende Primer verwendet:

PfYAEMfor 5'-CTGAATTTTCATATTACAAAATTAATAGATG-3'

PfYAEMrev 5'-GTACTATGAAGAATTATGTTTGTGTATAT-3'.

Für die PCR-Reaktion wurde folgender Ansatz verwendet:

3 µl 10 x PCR-Puffer
2,4 µl 25 mM MgSO₄
2,4 µl 2,5 mM dNTP
2 µl Matrizen-DNA (0,2 µg / ml)
2 µl Primer 1 (7,5 µM)
2 µl Primer 2 (7,5 µM)
0.2 µl Taq-Polymerase (5 U / µl)
16 µl H₂O

Die Amplifikation erfolgte mit folgendem Profil:

3 Zyklen: 96°C 1 min
 48°C 1 min
 72°C 3 min
32 Zyklen: 95 °C 40 sec
 48°C 1 min
 72°C 3 min

Nach dem letzten Zyklus wurde der Ansatz zur vollständigen Verlängerung aller Produkte noch 10 min bei 72°C inkubiert. Das PCR-Produkt von 4 derartigen Ansätzen wurde vereinigt und über ein 0.7 %iges Agarosegel gereinigt. Die Elution der DNA aus dem Agaroseblöckchen erfolgte mit dem „Kit for DNA extraction“ (Millipore, Kat. Nr. S667). Die eluierte DNA wurde mit Ethanol präzipitiert und in 10 µl H₂O aufgenommen. Anschließend wurde das PCR-Produkt nach den Vorschriften des Herstellers mit dem TA-cloning kit (Invitrogen) kloniert. Dabei wurden 20 mg insert-DNA für einen Ligationsansatz verwendet. Bakterienkolonien, die das ge-

wünschte rekombinante Plasmid trugen, wurden durch analytische Plasmidpräparation und EcoR I- Verdau der Plasmide identifiziert. Die klonierten PCR-Produkte wurden dann unter Verwendung von Standard- Forward- und Reverse-Primern sequenziert; die Sequenzen wurden mit der Technik des Primer Walkings vervollständigt.

Für die Expression in COS-7- Zellen wurde ein PCR-Produkt, das in der entsprechenden Orientierung im pCR2.1-Vektor vorlag, in den Expressionsvektor pBK-CMV (Stratagene) umkloniert. Die Umklonierung erfolgte dabei über die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Not I und BamH I, die im Polylinker beider Vektoren vorkommen. Für die Transfektion der COS-7-Zellen wurde der Expressionsvektor mit dem PCR-Produkt als Insert über Anionenaustausch-Chromatographie (Qiagen) im präparativen Maßstab hergestellt.

Alle für die Klonierung verwendeten Methoden sind ausführlich beschrieben in J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis (1989), Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, USA.

Die COS-7-Zellen wurden in DMEM-Medium mit 10 % FCS unter Standardbedingungen kultiviert. Pro Zellkulturflasche wurden 30 ml Kulturmedium berechnet. Für die Transfektion wurden Zellen bei ca. 50 % Konfluenz verwendet, die am Vortag frisch gesplittet worden waren. Als Transfektionsreagenz wurde DOTAP (Boehringer) verwendet. 40 µl DNA-Lösung (0,5 µg / ml) wurden mit 110 µl 20 mM HEPES (pH 7,4) gemischt. Außerdem wurden 100 µl DOTAP mit 230 µl 20 mM HEPES (pH 7,4) in einem Polystyrol-Reaktionsgefäß gemischt. Dann wurde die DNA-Lösung zu der DOTAP-Lösung zupipettiert und 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde der Ansatz mit 20 ml Kulturmedium gemischt und das Medium der COS-7-Zellen durch dieses Gemisch ersetzt. Am folgenden Tag

wurden die Zellen mit frischem Medium in neue Zellkulturflachen transferriert. Nach weiterer 48stündiger Inkubation wurden die transfizierten COS-7-Zellen geerntet. Dazu wurden die Zellen abgeschabt und dreimal durch Zentrifugation in Assay-Puffer (100 mM TrisHCl (pH 7,5), 1 mM $MnCl_2$) gewaschen. Die Zellen wurden in einem minimalen Volumen Assay-Puffer resuspendiert und durch dreimaliges Einfrieren (in flüssigem Stickstoff) und Auftauen aufgeschlossen. Zellfragmente wurden in einem 1.5 ml Reaktionsgefäß abzentrifugiert (13 000 rpm, 10 min, 4 °C) und der Überstand direkt für die Messung der Enzymaktivität oder zur Aufreinigung des Enzyms verwendet.

Beispiel 2

Reinigung der rekombinanten DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum*

Zur genaueren Charakterisierung wurde die in COS-7-Zellen exprimierte rekombinante DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* zur weitgehenden Homogenität aufgereinigt. Die Reinigung erfolgte über einen affinitätschromatographischen und einen gelpermeationschromatographischen Schritt.

Zur Herstellung einer geeigneten Affinitätschromatographie-Säule wurden zunächst Antikörper gegen die DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* hergestellt. Dazu wurden aus der von der DNA-Sequenz abgeleiteten Aminosäuresequenz solche Abschnitte ausgewählt, für die eine besonders hohe antigene Wirkung vorausgesagt werden konnte. Entsprechende Peptide wurden synthetisiert und für die Immunisierung von Kaninchen eingesetzt. Die Qualität der erhaltenen Antiseren wurde sowohl anhand ihrer Reaktivität mit den synthetischen

Peptiden, als auch durch Western blot-Analysen bestätigt. Für die Western blot-Analysen (BM Western Blotting Kit, Boehringer) wurden Extrakte aus *P. falciparum* und rekombinanten COS-Zellen verwendet.

Zur Herstellung der Affinitätschromatographie-Säule wurde das Antiserum zur Beseitigung niedermolekularer Amine gegen PBS dialysiert. Die Antikörper wurden dann an Protein A-Sepharose gebunden und durch Cross-linking mit DMP kovalent gekoppelt (IgG Orientation Kit, Pierce). Der Proteinextrakt wurde wie in Beispiel 1 beschrieben aus 55 Zellkulturflächen mit transfizierten COS-7-Zellen gewonnen und auf die mit Assay-Puffer äquilibrierte Säule geladen. Nach exzessivem Waschen mit Assay-Puffer wurde die Säule mit Elutions-Puffer (100 mM GlycinHCl (pH 2,8), 0.4 % CHAPS) eluiert. Das Eluat wurde sofort mit 1 M TrisHCl (pH 7,5) neutralisiert. Die Hauptfraktionen wurden durch Western blot-Analyse identifiziert. Dazu wurden für die Detektion biotinylierte Antikörper verwendet, um eine Störung durch von der Säule in geringer Menge eluierte Antikörper zu vermeiden. Die Hauptfraktionen wurden vereinigt, gegen Assay-Puffer dialysiert und durch Ultrafiltration (30 kDa, Amicon) konzentriert. Die weitere Reinigung erfolgte durch Gelpermeationsschromatographie (Superdex 200, Pharmacia) mit Assay-Puffer als Start- und Elutions-Puffer. Die Hauptfraktionen wurden wie oben beschrieben identifiziert, vereinigt und konzentriert, mit 20 % Glycerin versetzt und bei -70°C eingefroren. Durch SDS-PAGE (12 % Acrylamid) unter reduzierenden Bedingungen und Silberfärbung (Gelcode Colour Silver Stain Kit, Pierce) wurde die gereinigte DCMF-Reductoisomerase von *P. falciparum* als einheitliche Bande bei 54 kDa dargestellt.

Beispiel 3

Bestimmung der Aktivität des gereinigten Enzyms und Screening nach Inhibitoren

Die DOXP-Reductoisomerase-Aktivität des gereinigten Enzyms wurde in einem *in vitro*-Versuchssystem bestätigt. Für einen typischen Versuchsansatz wurden 100 µl Assay-Puffer mit 0,3 mM NADPH, 0,3 mM DOXP und 10 µg rekombinantem Enzym verwendet. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von DOXP zum kompletten Ansatz gestartet. Die Oxidation von NADPH wurde photometrisch bei 340 nm in Mikroquarzküvetten bei 37°C verfolgt. Dieses Versuchssystem wurde verwendet, um die Inhibition der rekombinanten DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* durch verschiedene Substanzen zu zeigen. Nach Zugabe von 1 µM 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz und 1 µM 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz zum Reaktionsansatz war keine Veränderung der Absorption bei 340 nm zu beobachten. Unter diesen Bedingungen wurde die DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* vollständig inhibiert.

Beispiel 4

Test der Wirksamkeit der Substanzen gegen Malaria *in vivo*

Die verschiedenen Derivate wurden nach dem modifizierten Peters' Test getestet. Die Substanzen wurden dabei in einem Viertel der halblethalen Dosis (LD50) appliziert. Bei dem Versuchsansatz wurden zehn Mäuse mit *Plasmodium vinckei*, dem Erreger der Mäusemalaria, infiziert. Nach Bestätigung der Infektion durch Blutuntersuchung erfolgte die Behandlung in vier Mäusen. Als Kontrolle dienten sechs Mäuse, die nicht behandelt wurden. Die Behandlung mit 1-1000 mg/kg/d ,

3-(N-Formyl-N-Hydroxylamino)-propylphosphonsäuremononatriumsalz über 3 Tage führte zu einer Abtötung der Parasiten im Blut der Mäuse. Die behandelte Gruppe war bereits nach einem Tag frei von lebenden Parasiten. Die Kontrollmäuse mußten am Tag 5 nach Infektion bei einer Parasitämie von > 80% getötet werden. Die behandelten Mäuse waren auch 8 Wochen nach Behandlungsende immer noch frei von Parasiten. Weitere Experimente zeigten eine Wirksamkeit von 50 mg/kg/d 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz in Mäusen mit einer Parasitämie von 80%. Auch diese Mäuse waren nach 1 Tag frei von lebenden Parasiten. Die weiteren Ergebnisse für 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz sind in Figur 5 dargestellt.

Beispiel 5

Schutzwirkung vor Malaria beim Versuch mit infizierten Mäusen

Die Wirksamkeit der Verbindungen in vivo gegenüber Malaria wurde unter Heranziehen von 20 bis 25 g schweren männlichen Mäusen (BALB/c-Stamm) getestet. Einen Tag vor der Infektion wurden vier Mäuse intraperitoneal mit 50 mg/kg 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz behandelt. Die Mäuse wurden dann mit Plasmodium vinckei infiziert. Mäuse, die nicht mit der Substanz vorbehandelt wurden, dienten als Kontrolle. Es konnte in den behandelten Mäusen keine Infektion nachgewiesen werden, während die Kontrollmäuse nach 5 Tagen mit einer Parasitämie über 80% getötet werden. Die behandelten Mäuse waren auch 8 Wochen nach der Infektion frei von Parasiten.

Beispiel 6

In vitro Inhibition des Wachstums von Malaria Parasiten
Zum Prinzip der IC₅₀-Bestimmung (die Konzentration, bei der die Vitalität der Parasiten um die Hälfte reduziert wird)

Zur Bestimmung der IC₅₀-Werte werden die Malariaparasiten zunächst für einen vollständigen 48-Stunden-Zyklus in Gegenwart von Inhibitoren kultiviert, in den anschließenden 24 Stunden wurde die Überlebensrate durch [³H]-Hypoxanthin-Einbau gemessen. Auf einer Mikrotiterplatte wird eine Verdünnungsreihe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäuremononatriumsalz in 10-fach konzentrierten 20- μ l-Aliquots vorgelegt. Dann werden zu jedem Well 180 μ l Parasitensuspension in Kulturmedium zugefügt. Es werden asynchrone Kulturen mit ca. 0,4% Parasitämie und 2 % Hämatokrit verwendet. Anschließend werden die Mikrotiterplatten für 48 h inkubiert. Dann werden zu jedem Well 30 μ l [³H]-Hypoxanthin zugefügt. Nach 24-stündiger Inkubation wurden die Zellen geerntet und die inkorporierte Radioaktivität wurde gemessen. In den Figuren 6a, 6b und 6c sind die Ergebnisse mit den Stämmen HB3, A2 und Dd2 mit bekannten Resistenzen gegen andere Malaria-Medikamente dargestellt. In beiden Stämmen ergibt sich ein IC-50-Wert von unter 0,5 μ M. Die Resistenzen dieser Stämme sind:

Plasmodium falciparum HB3 (Honduras) ist gegen Pyrimethamin resistent.

Plasmodium falciparum Dd2 (Indochina) ist gegen Cloroquin, Chinin, Pyrimethamin, Cycloguanil und Sulfadoxin resistent.

Plasmodium falciparum A2 (Gambia) ist gegen Chloroquin und Cycloguanil resistent.

Es wurden keine Kreuzresistenzen mit Anti-Malaria-Mitteln gefunden.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Auffinden von chemischen Wirkstoffen, die zur Therapie von Infektionskrankheiten, hervorgerufen durch ein- oder mehrzellige Parasiten geeignet sind, dadurch gekennzeichnet, daß man Proteine, die am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg beteiligt sind, oder deren gleichwirkende Derivate mit den auf ihre Wirksamkeit gegenüber Parasiten zu untersuchenden Wirkstoffen in Berührung bringt und die Wirkstoffe, die die Proteine oder deren Derivate inhibieren, auswählt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteine an mindestens einem der folgenden Schritte a)-i),
 - a) Umsetzung von Glycerinaldehyd und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose,
 - b) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu Isopentenylidiphosphat,
 - c) Bildung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - d) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - e) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat
 - f) Bildung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - g) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - h) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - i) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat zu Isopentenylidiphosphatbeteiligt sind.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff die Produktion der beteiligten Enzyme oder der beteiligten Co-Faktoren, insbesondere den Umsatz des Enzyms 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase oder 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase hemmt, oder den Abbau der beteiligten Enzyme oder beteiligten Co-Faktoren fördert.
4. Protein mit oder ohne 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase Aktivität, welches am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg beteiligt ist und a) codiert wird von der in Figur 1b und 2b gezeigten DNA-Sequenz oder b) codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in Figur 1b oder 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der für das reife Protein codiert, hybridisieren.
5. Protein mit oder ohne 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase Aktivität, das am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweges beteiligt ist, dadurch gekennzeichnet, daß es a) codiert wird von der in Figur 1a und 2a gezeigten DNA-Sequenz oder b) codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in Figur 1a oder 2a gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der für das reife Protein codiert hybridisieren.
6. Protein nach den Ansprüchen 4 oder 5 und weitere Proteine, die am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweges beteiligt sind, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus den Kulturüberständen von Parasiten oder aus den aufgeschlossenen Parasiten durch Aufreini-

gung über chromatographische und elektrophoretische Techniken erhältlich sind.

7. Protein nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß es a) das Produkt einer prokaryontischen oder eukaryontischen Expression einer exogenen DNA ist, b) codiert wird von den Sequenzen 1a, 1b, 2a oder 2b oder codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in den Figuren 1a, 1b, 2a oder 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der das reife Protein codiert, hybridisieren, oder c) codiert wird von DNA-Sequenzen, die ohne Degeneration des genetischen Codes mit den in b) definierten Sequenzen hybridisieren würden und für ein Polypeptid mit entsprechender Aminosäuresequenz codieren.
8. Protein gemäß einem der vorangehenden Ansprüche 4 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß es aus den Aminosäuren der Sequenzen 2a, 2b, 3a oder 3b besteht.
9. Protein nach einem der Ansprüche 4 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Protein 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase oder 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Redukto-isomerase ist.
10. Nukleinsäure, welche ein Protein gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9 codiert, dadurch gekennzeichnet, daß sie ausgewählt ist aus der Gruppe a) der in den Figuren 1a, 1b, 2a, 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder der komplementären DNA-Sequenzen, b) Nukleinsäuresequenzen, die mit der Sequenz von a) hybridisieren, c) Nukleinsäuresequenzen, die ohne die Degeneration des genetischen Codes mit ei-

ner der in a) oder b) genannten Sequenzen hybridisieren würden.

11. DNA, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Sequenz aufweist, ausgewählt aus der Gruppe, die aus der in Figur 1a gezeigten Sequenz, der in Figur 1b gezeigten Sequenz, der in Figur 2a gezeigten Sequenz und der in Figur 2b gezeigten Sequenz besteht.
12. Rekombinanter Expressionsvektor, der DNA enthält, die ein Protein nach den Ansprüchen 4 bis 9 codiert und in einem transformierten Mikroorganismus oder einem transformierten eukaryontischen Zelle, oder in einem Tier oder eine Pflanze die proteincodierende DNA exprimiert.
13. Wirtszelle, insbesondere prokaryontische Wirtszelle, eukaryontische Wirtszelle, Tiere und Pflanzen, welche mit einer DNA, die ein Protein nach den Ansprüchen 4 bis 9 codiert, transfiziert ist und das genannte Protein produzieren kann.
14. Wirtszelle nach Anspruch 13, die E. coli oder eine Säugerzelllinie ist.
15. Verwendung von DNA, die für ein Protein nach den Ansprüchen 4 bis 9 codiert, zur Transfektion eines prokaryontischen oder eukaryontischen Organismus.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Protein aus Parasiten oder aus Kulturüberständen von Parasiten-Kulturen über chromatographische und elektrophoretische Techniken gewonnen wird.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3 und 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Protein durch Expression der DNA, die ein Protein nach einem der Ansprüche 4 bis 9 codiert, in einer geeigneten Wirtszelle und Isolierung des Proteins aus der Wirtszelle oder aus dem Kulturüberstand der Wirtszelle rekombinant hergestellt wird.
18. Verwendung eines Proteins aus dem 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg gemäß einem der Ansprüche 4 bis 8 als Antigen oder Immunogen zur Herstellung von Antikörpern, die an dieses Protein binden.
19. Antikörper gegen ein Protein aus dem 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9, erhältlich durch in-vitro-Immunisierungstechniken oder durch Immunisierung eines Tieres mit einem Protein gemäß einem der vorangehenden Ansprüche und Gewinnung der Antikörper aus dem Serum oder aus den Milzzellen der immunisierten Tiere.
20. Verwendung eines Proteins gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9 zur Identifizierung von antiparasitär wirkenden Stoffen.
21. Verwendung eines Antikörpers gemäß Anspruch 19 zur Identifizierung eines antiparasitär wirkenden Stoffes.
22. Verfahren zum Nachweis von Nukleinsäuren, welche ein Protein gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9 codieren, dadurch gekennzeichnet, daß die zu untersuchende Probe mit einer Nukleinsäuresonde inkubiert wird, welche aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus a) der in den Figuren 1a

und 1b gezeigten DNA-Sequenzen oder der dazu komplementären Sequenz, b) Nukleinsäuren, die mit einer der Sequenzen von a) hybridisieren bestehen, die Nukleinsäuresonde mit der Nukleinsäure der Probe inkubiert wird und die Hybridisierung ggf. über einen weiteren Bindepartner von Nukleinsäuresonde nachgewiesen wird.

23. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß die nachzuweisende Nukleinsäure vor dem Nachweis amplifiziert wird.
24. Testsysteme unter Verwendung eines Proteins gemäß einem der vorangehenden Ansprüche zur Identifizierung eines antiparasitär wirkenden Stoffes.
25. Wirkstoff zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten, dadurch gekennzeichnet, daß er unter Verwendung eines Testsystems nach Anspruch 24 identifiziert wird.
26. Wirkstoff zur Herstellung eines Herbizids oder eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch Bakterien, dadurch gekennzeichnet, daß er unter Verwendung eines Testsystems nach Anspruch 24 identifiziert wird.
27. Wirkstoff zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten, dadurch gekennzeichnet, daß er die Enzyme oder Co-Faktoren des 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweges hemmt.

28. Wirkstoff nach Anspruch 25 oder 27, dadurch gekennzeichnet, daß er mindestens einen der folgenden Schritte a)-i),
- a) Umsetzung von Glycerinaldehyd und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose,
 - b) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu Isopentenylidiphosphat,
 - c) Bildung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - d) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - e) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat
 - f) Bildung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - g) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - h) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - i) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat zu Isopentenylidiphosphat hemmt.
29. Wirkstoff nach Anspruch 25, 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff die Produktion der beteiligten Enzyme oder der beteiligten Co-Faktoren, insbesondere den Umsatz des Enzyms 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase oder 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase hemmt, oder den Abbau der beteiligten Enzyme oder beteiligten Co-Faktoren fördert.
30. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 25 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff 3-(N-acetyl-N-hydroxyamino)-propylphosphonat oder 3-(N-formyl-N-hydroxyamino)propyl-phosphonat ist.

31. Verwendung eines Wirkstoffs nach Anspruch 25, 27 bis 30 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten, insbesondere von Malaria, der Schlafkrankheit und der Leishmaniosen.
32. Verwendung nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, daß das Arzneimittel ferner einen oder mehrere Bestandteile der Gruppe aufweist, die aus Hemmern der Fettstoffwechselwege, der Cholesterinsynthese, der Cholesterinaufnahme besteht.
33. Verwendung nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß der Hemmer der Fettstoffwechselwege ein HMG-CoA-Reduktase-Hemmer oder ein HMG-CoA-Synthase-Hemmer, insbesondere Lovastatin, Mevastatin, Compactin, Simvastatin, Pravastatin, Atorvastatin, Fluvastatin und Cerivastatin, ist.

ATGAAGAAATATATTTATATATATTTTTTCTTCATCACAAT
AACTATTAATGATTTAGTAATAAATAATACATCAAAATGTGTTTCCATTG
AAAGAAGAAAAATAACGCATATATAAATTATGGTATAGGATATAATGGA
CCAGATAATAAAATAACAAAGAGTAGAAGATGTAAAAGAATAAAGTTATG
CAAAAAGGATTTAATAGATATTGGTGCAATAAAGAAACCAATTAATGTAG
CAATTTTTGGAAGTACTGGTAGTATAGGTACGAATGCTTTAAATATAATA
AGGGAGTGTAATAAAATTGAAAATGTTTTTAATGTTAAAGCATTGTATGT
GAATAAGAGTGTGAATGAATTATATGAACAAGCTAGAGAATTTTTACCAG
AATATTTGTGTATACATGATAAAAGTGTATATGAAGAATTAAAAGAACTG
GTAAAAAATATAAAAGATTATAAACCTATAATATTGTGTGGTGATGAAGG
GATGAAAGAAATATGTAGTAGTAATAGTATAGATAAAATAGTTATTGGTA
TTGATTCTTTTCAAGGATTATATTCTACTATGTATGCAATTATGAATAAT
AAAATAGTTGCGTTAGCTAATAAAGAATCCATTGTCTCTGCTGGTTTTCTT
TTTAAAGAAATTATTAAATATTCATAAAAATGCAAAGATAATACCTGTTG
ATTCAGAACATAGTGCTATATTTCAATGTTTAGATAATAATAAGGTATTA
AAAACAAAATGTTTACAAGACAATTTTTCTAAAATTAACAATATAAATAA
AATATTTTTATGTTTCATCTGGAGGTCCATTTCAAATTTAACTATGGACG
AATTAAAAAATGTAACATCAGAAAATGCTTTAAAGCATCCTAAATGGAAA
ATGGGTAAGAAAATAACTATAGATTCTGCAACTATGATGAATAAAGGTTT
AGAGGTTATAGAAACCCATTTTTTTATTTGATGTAGATTATAATGATATAG
AAGTTATAGTACATAAAGAATGCATTATACATTCTTGTGTTGAATTTATA
GACAAATCAGTAATAAGTCAAATGTATTATCCAGATATGCAAATACCCAT
ATTATATTCTTTAACATGGCCTGATAGAATAAAAAACAAATTTAAAACCTT
TAGATTTGGCTCAGGTTTCAACTCTTACATTTCATAAACCTTCTTTAGAA
CATTTCCCGTGTATTAAATTAGCTTATCAAGCAGGTATAAAAGGAACTT
TTATCCAACGTACTAAATGCGTCAAATGAAATAGCTAACAACCTTATTTT
TGAATAATAAAATTAAATATTTTGATATTTCTCTATAATATCGCAAGTT
CTTGAATCTTTCAATTCTCAAAGGTTTCGGAAAATAGTGAAGATTTAAT
GAAGCAAATTCTACAAATACATTCTTGGGCCAAAGATAAAGCTACCGATA
TATACAACAAACATAATTCTTCATAG

FIG. 1a

GGTAATATACGTATAATATATATATAATATATTCTTACGTATGTATCATT
TATGAATCATAATAATATTCTAAATTTACCTTCCGTTTTTGCTCGATCTT
CTCATTTTCGTTTCAGCTTTTATCAATGATTTTTTAATTATGTGTTTTTA
AGAACTTTGTACCAGTTGTTCTATACATTCTCCTTATAATATATATTAAC
TTAAATGGCATGAATAATAAAAATCAAATAAAAACAGAAAAAATTTATAT
AAAGAAATTGAATAGGTTGTCAAGGAAAAATTCGTTATGTAGTTCTAAAA
ATAAAATAGCATGCTTGTTTCGATATAGGAAATGATGATAATAGAAATACG
ACATATGGCTATAATGTGAATGTTAAAAATGATGATATTAATTCCTTACT
AAAAATAATTATAGTAATAAATTGTACATGGATAAGAGGAAAAATATTA
ATAATGTAATTAGTACTAATAAAATATCTGGGTCCATTTCAAATATTTGT
AGTAGAAATCAAAAAGAAAATGAACAAAAAAGAAATAAACAAAGATGTTT
AACTCAATGTCACACTTATAATATGTCACATGAACAGGACAAACTAGCTA
ATGATAATAATAGGAATAATAAAAAGAATTTTAATTTATTATTTATAAAT
TATTTTAATTTGAAACGAATGAAAAATTCCTCTCTAAATAAAGACAATTT
CTTTTACTGTAAAGAAAAAAAATTTGTCATTTCTGCATAAGGCCTATAAAA
AAAAAATTTGCACTTTTCAAATTTATAGTTTAAAAAGAAAATCTAATCGT
GATTCACATAAATTGTTTTCTGGAGAATTTGACGATTATACAAATAATAA
TGCTTTTATATGAATCCGAAAAAAAAGAATACATTACACTAAATAATAATA
ATAAAAATAATAATAATAATAATAATGATAATAAAAATAATGATAATAAT
GATTATAATAATAATAATAGTTGTAATAATTTAGGAGAGAGATCCAATCA
TTATGATAATTATGGTGGAGATAATAATAATCCATGTAATAATAATAATG
ACAAATATGATATAGGAAAATATTTCAAACAGATTAATACCTTTATTAAT
ATTGATGAATATAAACTATATATGGTGATGAAATATATAAAGAAATATA
TGAACATATATGTAGAAAGAAATATTCCTGAATATTATGAACGAAATATT
TTTCAGAAAGATATTAAAAAGAGTGTCCTATTTGATATAGATAAATATAAT
GATGTGCAATTTGAAAAAGCTATAAAAGAAGAATTTATAAATAATGGAGT
TTATATTAATAATATAGATAATACATATTATAAAAAAGAAAATATTTTAA
TAATGAAAAAGATATTACATTATTTCCCATTTATTAATAATTAATAAT
CCATCAGATTTAAAAAAGTTAAAAAACAATATTTTACCTTTATTAGCACA
TGAATTAATAATATTTTTTATTTTTTATTGTAATATAACAGGAGGTCATT
TTTCCTCTGTTTTAAGCTCTTTAGAAATTCAATTATTATTATTGTATATT
TTAATCAACCATATGATAATGTTATATATGATATAGGACATCAAGCATA
TGACATAAGATATTGACCGGAAGAAAATATTATTTCTATCATTAAGAA
ATAAAAAAGGTATTAGTGGATTCCTAAATATTTTTTGAAAGTATTTATGAT
AAATTTGGGGCTGGTCACAGTTCCACTTCATTAAGTGCTATACAAGGATA
TTATGAAGCCGAGTGGCAAGTGAAGAATAAAGAAAAATATGGAAATGGAG
ATATAGAAATAAGTGATAACGCAAATGTCACGAATAATGAAAGGATATTT
CAAAAAGGAATACACAATGATAATAATTAACAATAATATTAATAATAA
TAATTATATCAATCCTTCAGATGTGGTAGGAAGAGAAAATACGAATGTAC
CAAATGTACGAAATGATAACCATAACGTGGATAAAGTACACATTGCTATT
ATAGGAGATGGTGGTTTAAACAGGTGGAATGGCATTAGAAGCGTTAAATTA
TATTTCAATCTTGAATTCTAAAATTTTAATTATTTATAATGATAACGGAC
AAGTTTCTTTACCAACAAATGCCGTAAGTATATCAGGTAATAGACCTATA
GGTCTATATCAGATCATTTACATTATTTTGTCTTAATATAGAAGCAAA
TGCTGGTGATAATAAATTATCGAAAAATGCAAAAGAGAATAACATTTTTG
AAAATTTGAATTATGATTATATTGGTGTGTGAATGGTAATAATACAGAA

Fig.1b Teil 1

GAGCTCTTTAAAGTATTAAATAATATAAAAAGAAAATAAATTAAAAAGAGC
TACTGTTCTTCATGTACGTACAAAAAATCGAATGATTTTATAAATTCAA
AGAGTCCAATAAGTATATTGCACTCTATAAAGAAAAATGAGATTTTCCCT
TTCGATACCCTATATTAAATGGAAATATTCATAAGGAGAACAAGATAGA
AGAAGAGAAAAATGTGTCTTCATCTACAAAGTATGATGTAAATAATAAGA
ATAATAAAAAATAATGATAATAGTGAAATTATAAAATATGAAGATATGTTT
TCAAAAGAGACGTTCAAGATATATATACAAATGAAATGTTAAAAATATTT
AAAGAAAGATAGAAATATAATATTCCTATCTCCCGCTATGTTAGGAGGAT
CAGGATTGGTTAAAATTAGTGAGCGTTATCCAAATAATGTATATGATGTA
GGTATAGCAGAACAACATTCTGTAACCTTTCGCAGCAGCTATGGCAATGAA
TAAGAAATTAAAAATACAATTATGTATATATTCGACCTTTTACAAAGAG
CATATGATCAAATTATACATGATCTTAATTTACAAAATATACCTTTAAAG
GTTATAATTGGAAGAAGTGGATTAGTAGGAGAGGATGGGGCAACACATCA
AGGTATATATGATTTATCTTATCTTGGGACACTTAACAATGCATATATAA
TATCTCCAAGTAATCAAGTTGATTTGAAAAGAGCTCTTAGGTTTGCTTAT
TTAGATAAGGACCATTCTGTGTATATACGTATACCCAGAATGAACATATT
AAGTGATAAGTACATGAAAGGATATTTGAACATTCATATGAAAAATGAGA
GCAAAAATATCGATGTAAACGTGGATATAAACGATGATGTAGATAAATAT
AGTGAAGAATATATGGACGATGATAATTTTATAAAATCGTTTATTGGAAA
ATCTAGAATTATTAAAATGGATAATGAAAATAATAACAAATGAACATT
ATTCAAGCAGAGGAGATACACAGACAAAAAAAAAAAAAGTTTGTATCTTT
AACATGGGTTAGTATGCTTTTTTAATGTAATTAATGCTATAAAAGAAATTGA
AAAAGAACAATATATTTTCACATAATTATTCTTTTTCAATTGTTGATATGA
TATTTTTTAAATCCTTTTAGATAAAAAATATGATAGATCATGTAATAAAACAA
AATAAACATCAATATTTAATTACTTATGAAGATAATACTATAGGTGGTTT
TTCTACACATTTCAATAATTATTTAATAGAAAATAATTATATTACAAAAC
ATAACTTATATGTTTCATAATATTTATTTATCTAATGAGCCAATTGAACAT
GCATCTTTTAAGGATCAACAAGAAGTCGTCAAATGGATAAATGTAGTCT
TGTCATAGAATTAAAAATTATCTTAAAAATAATCCTACATGATGTAAGA
TAAATATATATTTCTAAAATTATTTTTTTTTTATACTTTAATGTGTACAA
TAAATATATATCTAAATATATTTTATTTGTACGCTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTAATTGTTATTTTTGTATAT

FIG.1b Teil 2

atgaagaaatatattttatatatatattttttcttcatcacaaataactattaatgatttagta
M K K Y I Y I Y F F F I T I T I N D L V
ataaataatacatcaaaatgtgtttccattgaaagaagaaaaataacgcatatataaat
I N N T S K C V S I E R R K N N A Y I N
tatgggtataggatataatggaccagataataaaataacaaagagtagaagatgtaaaaga
Y G I G Y N G P D N K I T K S R R C K R
ataaagttatgcaaaaaggattttaatagatatgtggtgcaataaagaaaccaattaatgta
I K L C K K D L I D I G A I K K P I N V
gcaatttttgggaagtactggttagtataggtagcaatgcttttaaatataataagggagtg
A I F G S T G S I G T N A L N I I R E C
aataaaattgaaaatgtttttaatgttaaagcattgtatgtgaataagagtgatgaatgaa
N K I E N V F N V K A L Y V N K S V N E
ttatatgaacaagctagagaattttttaccagaatatattgtgtatatacatgataaaagtgt
L Y E Q A R E F L P E Y L C I H D K S V
tatgaagaattaaaagaactggtaaaaaatataaaagattataaacctataatattgtgt
Y E E L K E L V K N I K D Y K P I I L C
ggtgatgaagggatgaaagaatatgtagtagtaatagtagataaaaatagttatttggt
G D E G M K E I C S S N S I D K I V I G
attgattcttttcaaggattatattctactatgtatgcaattatgaataataaaaatagtt
I D S F Q G L Y S T M Y A I M N N K I V
gcgttagctaataaagaatccattgtctctgctggtttctttttaagaaattattaaat
A L A N K E S I V S A G F F L K K L L N
attcataaaaatgcaaagataatacctgttgattcagaacatagtgctatattttcaatgt
I H K N A K I I P V D S E H S A I F Q C
ttagataataataaggtatttaaaaaacaaaatgtttacaagacaattttttctaaaattaac
L D N N K V L K T K C L Q D N F S K I N
aatataaataaaaatatttttatgttcatctggagggtccatttcaaaatttaactatggac
N I N K I F L C S S G G P F Q N L T M D
gaattaaaaaatgtaacatcagaaaatgcttttaagcctcctaaatggaaaatgggtaag
E L K N V T S E N A L K H P K W K M G K
aaaataactatagattctgcaactatgatgaataaagggttagaggttatagaaacccat
K I T I D S A T M M N K G L E V I E T H
tttttatttgatgtagattataatgatatagaagttatagtagacataaagaatgcattata
F L F D V D Y N D I E V I V H K E C I I
cattcttggtgttgatttatagacaaatcagtaataagtcaaagtattatccagatatg
H S C V E F I D K S V I S Q M Y Y P D M
caaatacccatatttatattctttaacatggcctgatagaataaaaaacaaattttaaacct
Q I P I L Y S L T W P D R I K T N L K P
ttagatttggctcagggtttcaactcttacatttcataaaccttcttttagaacatttcccg
L D L A Q V S T L T F H K P S L E H F P
tgtattaaattagcttatcaagcagggtataaaaggaaacttttatccaactgtactaaat
C I K L A Y Q A G I K G N F Y P T V L N
gcgtcaaattgaaatagctaacaacttatttttgaataataaaaattaaatattttgatatt
A S N E I A N N L F L N N K I K Y F D I
tcctctataatatcgcaagttcttgaatctttcaattctcaaaagggtttcggaaaatagt
S S I I S Q V L E S F N S Q K V S E N S
gaagattttaatgaagcaaattctacaaatacattcttgggccaaagataaagctaccgat
E D L M K Q I L Q I H S W A K D K A T D
atatacaacaacataattcttcatag
I Y N K H N S S -

FIG. 2a

tcgatcttctcatttttcgtttcagcttttatcaatgatttttaattatgtgttttttaag
M I F N Y V F F K
aactttgtaccagttgttctatacattctccttataatataattaacttaaatggcatg
N F V P V V L Y I L L I I Y I N L N G M
aataataaaaaatcaaataaaaaacagaaaaaatttatataaagaaattgaatagggtgtca
N N K N Q I K T E K I Y I K K L N R L S
aggaaaaattcgttatgtagttctaaaaataaaatagcatgcttggtcgatataggaaat
R K N S L C S S K N K I A C L F D I G N
gatgataatagaaatacgcacatatggctataatgtgaatgttaaaaaatgatgatattaat
D D N R N T T Y G Y N V N V K N D D I N
tccttactaaaaaataattatagtaataaattgtacatggataagaggaaaaatattaat
S L L K N N Y S N K L Y M D K R K N I N
aatgtaattagttactaataaaaaatatctgggtccattttcaaataattttagtagaaatcaa
N V I S T N K I S G S I S N I C S R N Q
aaagaaaatgaacaaaaaagaaataaacaagaatgttttaactcaatgtcacactttataat
K E N E Q K R N K Q R C L T Q C H T Y N
atgtcacatgaacaggacaaactagctaataataataggaataataaaaaagaatttt
M S H E Q D K L A N D N N R N N K K N F
aattttattttataaattatttttaatttgaaacgaatgaaaaatttctcttctaaataaa
N L L F I N Y F N L K R M K N S L L N K
gacaattttcttttactgtaaagaaaaaaaattgtcatttctgcataaggcctataaaaaa
D N F F Y C K E K K L S F L H K A Y K K
aaaaattgcactttttcaaaattatagtttaaaaaagaaaatctaatacgtgattcacataaa
K N C T F Q N Y S L K R K S N R D S H K
ttgttttctggagaatttgacgattatacaaaataataatgcttttatatgaatccgaaaaa
L F S G E F D D Y T N N N A L Y E S E K
aaagaatacattacactaaataataataaaaaataataataaaaaataatgataat
K E Y I T L N N N N K N N N N K N N D N
aaaaataatgataataatgattataataataataatagttgtaataatttaggagagaga
K N N D N N D Y N N N N S C N N L G E R
tccaatcattatgataattatgggtggagataataataatccatgtaataataataatgac
S N H Y D N Y G G D N N N P C N N N N D
aatatgatataggaaaatattttcaaacagattaatacctttattaatattgatgaatat
K Y D I G K Y F K Q I N T F I N I D E Y
aaaactatatatgggtgatgaaatatataaagaaatatatgaactatatgtagaaagaaat
K T I Y G D E I Y K E I Y E L Y V E R N
attcctgaatattatgaacgaaaatattttttcagaagatatataaaaagagtgtcctattt
I P E Y Y E R K Y F S E D I K K S V L F
gatatagataaatataatgatgtcgaatttgaaaaagctataaaagaagaattttataaat
D I D K Y N D V E F E K A I K E E F I N
aatggagtttatattaataatagataatacatattataaaaaagaaaatatttttaata
N G V Y I N N I D N T Y Y K K E N I L I
atgaaaaagatatattacattatttccattattataaaattaataatccatcagattta
M K K I L H Y F P L L K L I N N P S D L
aaaaagttaaaaaaacaatatattacctttatttagcacatgaattaaaaatatttttattt
K K L K K Q Y L P L L A H E L K I F L F
tttattgtaaataaacaaggaggtcatttttctctgttttaagctcttttagaaattcaa
F I V N I T G G H F S S V L S S L E I Q

FIG.2b Teil 1

ttattattattgtatatatttttaataccaacatgataatggttatatatgatataggacat
L L L L Y I F N Q P Y D N V I Y D I G H
caagcatatgtacataagatattgaccggaagaaaactattatttctatcattaagaat
Q A Y V H K I L T G R K L L F L S L R N
aaaaaagggtatttagtggttcctaaatatttttgaaagtatttatgataaatttggggct
K K G I S G F L N I F E S I Y D K F G A
ggtcacagttccacttcattaagtgtatatacagaagatattatgaagccgagtggaagt
G H S S T S L S A I Q G Y Y E A E W Q V
aagaataaagaaaaatattggaatggagatatagaataagtataacgcaaatgtcacg
K N K E K Y G N G D I E I S D N A N V T
aataatgaaaggatatttcaaaaaggaatacacaatgataataattaacaataatatt
N N E R I F Q K G I H N D N N I N N N I
aataataataattatatcaatccttcagatgtggttaggaagagaaaatacgaatgtacca
N N N N Y I N P S D V V G R E N T N V P
aatgtacgaaatgataaccataacgtggataaagtacacattgtattataggagatggt
N V R N D N H N V D K V H I A I I G D G
ggtttaacaggtggaatggcattagaagcgtaaattatatttcattcttgaattctaaa
G L T G G M A L E A L N Y I S F L N S K
attttaattatttataatgataacggacaagtttctttaccaacaaatgccgtaagtata
I L I I Y N D N G Q V S L P T N A V S I
tcaggtaatagacctataggttctatatcagatcatttacattattttgtttctaata
S G N R P I G S I S D H L H Y F V S N I
gaagcaaatgctggtgataataaattatcgaaaaatgcaaaagagaataacatttttgaa
E A N A G D N K L S K N A K E N N I F E
aatttgattatgattatatttggtgttggaatggaataatacagaagagctctttaaa
N L N Y D Y I G V V N G N N T E E L F K
gtattaaataataaaaagaaaaataaattaaaaagagctactgttcttcatgtacgtaca
V L N N I K E N K L K R A T V L H V R T
aaaaaatcgaaatgattttataaattcaaagagtcataaagtatattgcactctataaag
K K S N D F I N S K S P I S I L H S I K
aaaaatgagattttccctttcgataccactatattaaatggaaatattcataaggagaac
K N E I F P F D T T I L N G N I H K E N
aagatagaagaagagaaaaatgtgtcttcatctacaaagtatgatgtaataataagaat
K I E E E K N V S S S T K Y D V N N K N
aataaaaaataatgataatagtgaattataaaatatgaagatatgttttcaaaagagacg
N K N N D N S E I I K Y E D M F S K E T
ttcacagatatatacaaatgaaatgttaaaatatttaaaagaaagatagaaatataata
F T D I Y T N E M L K Y L K K D R N I I
ttcctatctcccgctatgttaggaggatcaggattgggttaaaatttagtgagcggttatcca
F L S P A M L G G S G L T K I S E R Y P
aataatgtatatgatgttaggtatagcagaacaacatttcttaacttttcgcagcagctatg
N N V Y D V G I A E Q H S V T F A A A M
gcaatgaataaagaattaaaaatacaattatgtatatatttgcattttttacaaagagca
A M N K K L K I Q L C I Y S T F L Q R A
tatgatcaaatatacatgatcttaattttacaaaatatatttaaaaggttataattgga
Y D Q I I H D L N L Q N I P L K V I I G

FIG.2b Teil 2

agaagtggattagtaggagaggatggggcaacacatcaagggtatatatgatttatcttat
R S G L V G E D G A T H Q G I Y D L S Y
cttgggacacttaacaatgcatatataatatctccaagtaatcaagttgatttgaaaaga
L G T L N N A Y I I S P S N Q V D L K R
gctcttaggtttgcttatttagataaggaccattctgtgtatatacgtatacccagaatg
A L R F A Y L D K D H S V Y I R I P R M
aacatattaagtgataagttacatgaaaggatatttgaacattcatatgaaaaatgagagc
N I L S D K Y M K G Y L N I H M K N E S
aaaaatatcgatgtaaacgtggatataaacgatgatgtagataaatatagtgaagaatat
K N I D V N V D I N D D V D K Y S E E Y
atggacgatgataattttataaaatcgttttattggaaaatctagaattattaaaatggat
M D D D N F I K S F I G K S R I I K M D
aatgaaaataataatacaaatgaacattattcaagcagaggagatacacagacaaaaaaa
N E N N N T N E H Y S S R G D T Q T K K
aaaaaagtttgatatctttaacatgggtagtatgctttttaatgtaattaatgctataaaa
K K V C I F N M G S M L F N V I N A I K
gaaattgaaaaagaacaatatatttcacataattattctttttcaattgttgatatgata
E I E K E Q Y I S H N Y S F S I V D M I
tttttaaatccttttagataaaaaatgatagatcatgtaataaaaacaaaataaacatcaa
F L N P L D K N M I D H V I K Q N K H Q
tatttaattacttatgaagataataactatagggtggtttttctacacatttcaataattat
Y L I T Y E D N T I G G F S T H F N N Y
ttaatagaaaataattatattacaaaacataaacttatatgttcataatattttattatct
L I E N N Y I T K H N L Y V H N I Y L S
aatgagccaattgaacatgcatcttttaaggatcaacaagaagtcgtcaaaatggataaa
N E P I E H A S F K D Q Q E V V K M D K
tgtagtcttgtcaatagaattaaaaattatcttaaaaataatcctacatgatgtaagata
C S L V N R I K N Y L K N N P T -

FIG.2b Teil 3

MKKYIYIYFFFITITINDLVINNTSKCVSIEERRKNNAYINY
GIGYNGPDNKITKSRRCKRIKLCKKDLIDIGAIAKKPINVAIFGSTGSIGTNALNIIREC
KIENVFNVKALYVNKSVNELYEQAREFLPEYLCIHDKSVYEELKELVKNIKDYKPIILCG
DEGMKEICSSNSIDKIVIGIDSFQGLYSTMYAIMNNKIVALANKESIVSAGFFLKLLNI
HKNAKIIPVDSEHSAIFQCLDNNKVLKTKCLQDNFSKINNINKIFLCSSGGPFQNLTMDE
LKNVTSENALKHPKWKMGKKITIDSATMMNKGLEVIETHFLFDVDYNDIEVIVHKECIIH
SCVEFIDKSVISQMYYPDMQIPILYSLTWPDRIKTNLKPLDLAQVSTLTFHKPSLEHFPC
IKLAYQAGIKGNFYPTVLNASNEIANNLFLNNKIKYFDISSIISQVLESFNSQKVSENSE
DLMKQILQIHSWAKDKATDIYNKHNS

FIG.3a

MIENYVFFK
NFVPVVLIIILLIYINLNGMNNKNQIKTEKIYIKKLNRLSRKNSLCSSKNKIACLFDIGN
DDNRNTTYGYNVNVKNDDINSLLKNNYSNKLYMDKRKNINNVISTNKISGSISNICSRNQ
KENEQKRNKQRCLTQCHTYNMSHEQDKLANDNNRNNKKNFNLLFINYNLKRKMSLLNK
DNFFYCKEKLKSLFLHKAYKKKNCTFQNYSLKRKSNRDSHKLFSGEFDDYTNNNALYSEK
KEYITLNNNNKNNNNKNNNDNKNNDNDYNNNNNSCNNLGERSNHYDNYGGDNNNPCNNND
KYDIGKYFKQINTFINIDEYKTIYGDEIYKEIYELYVERNIPEYYERKYFSEDIKKSRLF
DIDKYNDVEFEKAIKEEFINNGVYINNIDNTYYKKENILIMKKILHYFPLLKLINNPDL
KKLKKQYLPPLLAHELKIFLFFIVNITGGHFSSVLSSLEIQLLLLYIFNQPYDNVIYDIGH
QAYVHKILTGRKLLFLSLRNKKGISGFLNIFESIYDKFGAGHSSTLSAIOGYEAEWQV
KNKEKYGNKDIEISDNANVTNNERIFQKGIHNDNNINNNINNNNYINPSDVVGRENTNP
NVRNDNHNVDKVHIAIIGDGGLTGGMALALNYISFLNSKILIIYNDNGQVSLPTNAVSI
SGNRPIGSI SDHLHYFVSNIEANAGDNKLSKNAKENNIFENLNYDYIGVVNGNNTTEELFK
VLNNIKENKLKRVTLHVTRTKKSNDNFINSKSPISILHSIKKNEIFPFDTTILNGNIHKN
KIEEEKNVSSSTKYDVNNKNNKNNNDNSEI IKYEDMFSKETFTDIYTNEMLKYLKDRNII
FLSPAMLGSGSLVKISERYPNVYDVGIAEQHSVTFAAAMAMNKKLKIQLCIYSTFLQRA
YDQIIHDLNLQNIPLKVIIGRSGLVGEDGATHQGIYDLSYLGTLNNAYIISPSNOVDLKR
ALRFAYLDKDHVYIRIPRMNILSDKYMKGYLNIHMKNESKNIDVNVDINDVDKYSEY
MDDDNFIKSFIGKSRIIKMDNENNNNTNEHYSSRGDTQTKKKKVCIFNMGSMLEFNVINAIK
EIEKEQYISHNYSFSIVDMI FLNPLDKNMIDHVIKQNKHQYLITYEDNTIGGFSTHFNNY
LIENNYITKHNLYVHNIYLSNEPIEHASFKDQQEVVKMDKCSLVNRIKNYLKNNPT

FIG. 3b

1 GATGAAATAT ATAAAGAAAT ATATGAACTA TATGTAGAAA GAAATATTCC
51 TGAATATTAT GAACGAAAAT ATTTTTCAGA AGATATTAAA AAGAGTGTCC
101 TATTTGATAT AGATAAATAT AATGATGTCG AATTTGAAAA AGCTATAAAA
151 GAAGAATTTA TAAATAATGG AGTTTATATT AATAATATAG ATAATACATA
201 TTATAAAAAA GAAAATATTT TAATAATGAA AAAGATATTA CATTATTTCC
251 CATTATTAAA ATTAATTAAT AATCCATCAG ATTTAAAAAA GTTAAAAAAA
301 CAATATTTAC CTTTATTAGC ACATGAATTA AAAATATTTT TATTTTTTAT
351 TGTAAATATA ACAGGAGGTC ATTTTTCCTC TGTTTTAAGC TCTTTAGAAA
401 TTCAATTATT ATTATTGTAT ATTTTAAATC AACCATATGA TAATGTTATA
451 TATGATATAG GACATCAAGC ATATGTACAT AAGATATTGA CCGGAAGAAA
501 ACTATTATTT CTATCATTA AATAAAAAA AGGTATTAGT GGATTCCTAA
551 ATATTTTTGA AAGTATTTAT GATAAATTTG GGGCTGGTCA CAGTTCCACT
601 TCATTAAGTG CTATACAAGG ATATTATGAA GCCGAGTGGC AAGTGAAGAA
651 TAAAGAAAAA TATGGAAATG GAGATATAGA AATAAGTGAT AACGCAAATG
701 TCACGAATAA TGAAAGGATA TTTCAAAAAG GAATACACAA TGATAATAAT
751 ATTAACAATA ATATTAATAA TAATAATTAT ATCAATCCTT CAGATGTGGT
801 AGGAAGAGAA AATACGAATG TACCAAATGT ACGAAATGAT AACCATAACG
851 TGGATAAAGT ACACATTGCT ATTATAGGAG ATGGTGGTTT AACAGGTGGA
901 ATGGCATTAG AAGCGTTAAA TTATATTTCA TTCTTGAATT CTAAAATTTT
951 AATTATTTAT AATGATAACG GACAAGTTTC TTTACCAACA AATGCCGTAA
1001 GTATATCAGG TAATAGACCT ATAGGTTCTA TATCAGATCA TTTACATTAT
1051 TTTGTTTCTA ATATAGAAGC AAATGCTGGT GATAATAAAT TATCGAAAAA
1101 TGCAAAAGAG AATAACATTT TTGAAAATTT GAATTATGAT TATATTGGTG
1151 TTGTGAATGG TAATAATACA GAAGAGCTCT TTAAAGTATT AAATAATATA
1201 AAAGAAAATA AATTAAAAAG AGCTACTGTT CTCATGTAC GTACAAAAAA
1251 ATCGAATGAT TTTATAAATT CAAAGAGTCC AATAAGTATA TTGCACTCTA
1301 TAAAGAAAAA TGAGATTTTC CCGTTGATA CCACTATATT AAATGGAAAT
1351 ATTCATAAGG AGAACAAGAT AGAAGAAGAG AAAAATGTGT CTTCATCTAC
1401 AAAGTATGAT GTAAATAATA AGAATAATAA AAATAATGAT AATAGTGAAA
1451 TTATAAATA TGAAGATATG TTTTCAAAAG AGACGTTTAC AGATATATAT

1501 ACAAATGAAA TGTAAAATA TTTAAAGAAA GATAGAAATA TAATATTCCT
1551 ATCTCCCGCT ATGTTAGGAG GATCAGGATT GGTAAAATT AGTGAGCGTT
1601 ATCCAAATAA TGTATATGAT GTAGGTATAG CAGAACAACA TTCTGTAECT
1651 TTCGCAGCAG CTATGGCAAT GAATAAGAAA TTAAAAATAC AATTATGTAT
1701 ATATTCGACC TTTTACAAA GAGCATATGA TCAAATTATA CATGATCTTA
1751 ATTTACAAAA TATACCTTTA AAGGTTATAA TTGGAAGAAG TGGATTAGTA
1801 GGAGAGGATG GGGCAACACA TCAAGGTATA TATGATTTAT CTTATCTTGG
1851 GACACTTAAC AATGCATATA TAATATCTCC AAGTAATCAA GTTGATTGTA
1901 AAAGAGCTCT TAGGTTTGCT TATTTAGATA AGGACCATTC TGTGTATATA
1951 CGTATACCCA GAATGAACAT ATTAAGTGAT AAGTACATGA AAGGATATTT
2001 GAACATTCAT ATGAAAAATG AGAGCAAAAA TATCGATGTA AACGTGGATA
2051 TAAACGATGA TGTAGATAAA TATAGTGAAG AATATATGGA CGATGATAAT
2101 TTTATAAAAT CGTTTATTGG AAAATCTAGA ATTATTAAAA TGGATAATGA
2151 AAATAATAAT ACAAATGAAC ATTATTCAAG CAGAGGAGAT ACACAGACAA
2201 AAAAAAAAAA AGTTTGTATC TTTAACATGG GTAGTATGCT TTTTAATGTA
2251 ATTAATGCTA TAAAAGAAAT TGAAAAAGAA CAATATATTT CACATAATTA
2301 TTCTTTTTC AATTGTTGATA TGATATTTTT AAATCCTTTA GATAAAAATA
2351 TGATA

FIG. 4a Teil 2

10 30 50
GATGAAATATATAAAGAAATATATGAACATATGTAGAAAGAAATATTCCTGAATATTAT
D E I Y K E I Y E L Y V E R N I P E Y Y

70 90 110
GAACGAAAATATTTTTCAGAAGATATTAAGAGAGTGTCTATTTGATATAGATAAATAT
E R K Y F S E D I K K S V L F D I D K Y

130 150 170
AATGATGTCGAATTTGAAAAAGCTATAAAGAAGAATTTATAAATAATGGAGTTTATATT
N D V E F E K A I K E E F I N N G V Y I

190 210 230
AATAATATAGATAATACATATTATAAAAAAGAAATATTTTAATAATGAAAAAGATATTA
N N I D N T Y Y K K E N I L I M K K I L

250 270 290
CATTATTTCCCATTTATTAATAATTAATAATCCATCAGATTTAAAAAGTTAAAAAAA
H Y F P L L K L I N N P S D L K K L K K

310 330 350
CAATATTTACCTTTATTAGCACATGAATTAATAATATTTTATTTTATTTTATTGTAAATATA
Q Y L P L L A H E L K I F L F F I V N I

370 390 410
ACAGGAGGTCATTTTTCCTCTGTTTTAAGCTCTTTAGAAATTCAATTATTATTGTAT
T G G H F S S V L S S L E I Q L L L L Y

430 450 470
ATTTTAAATCAACCATATGATAATGTTATATATGATATAGGACATCAAGCATATGTACAT
I F N Q P Y D N V I Y D I G H Q A Y V H

490 510 530
AAGATATTGACCGAAGAAAAGCTATTATTTCTATCATTAAGAAATAAAAAAGGTATTAGT
K I L T G R K L L F L S L R N K K G I S

550 570 590
GGATTCCTAAATATTTTGAAGATATTTATGATAAATTTGGGGCTGGTCACAGTTCCACT
G F L N I F E S I Y D K F G A G H S S T

610 630 650
TCATTAAGTGCTATACAAGGATATTATGAAGCCGAGTGGCAAGTGAAGAATAAAGAAAAA
S L S A I Q G Y Y E A E W Q V K N K E K

670 690 710
TATGGAATGGAGATATAGAAATAAGTGATAACGCAAATGTCACGAATAATGAAAGGATA
Y G N G D I E I S D N A N V T N N E R I

730 750 770
TTTCAAAAAGGAATACACAATGATAATAATATTAACAATAATATTAATAATAAATTAT
F Q K G I H N D N N I N N N I N N N N Y

790 810 830
ATCAATCCTTCAGATGTGGTAGGAAGAGAAAATACGAATGTACCAAATGTACGAAATGAT
I N P S D V V G R E N T N V P N V R N D

850 870 890
AACCATAACGTGGATAAAGTACACATTGCTATTATAGGAGATGGTGGTTTAAACAGGTGGA
N H N V D K V H I A I I G D G G L T G G

FIG.4b Teil 1

910 930 950
ATGGCATTAGAAGCGTTAAATTATATTTTCATTCTTGAATTCTAAAATTTTAATTATTTAT
M A L E A L N Y I S F L N S K I L I I Y

970 990 1010
AATGATAACGGACAAGTTTCTTTACCAACAAATGCCGTAAGTATATCAGGTAATAGACCT
N D N G Q V S L P T N A V S I S G N R P

1030 1050 1070
ATAGGTTCTATATCAGATCATTTACATTATTTTGTCTTAATATAGAAGCAAATGCTGGT
I G S I S D H L H Y F V S N I E A N A G

1090 1110 1130
GATAATAAATTATCGAAAAATGCAAAAGAGAATAACATTTTGAATTTGAATTATGAT
D N K L S K N A K E N N I F E N L N Y D

1150 1170 1190
TATATTGGTGTGTGAATGGTAATAATACAGAAGAGCTCTTTAAAGTATTAAATAATATA
Y I G V V N G N N T E E L F K V L N N I

1210 1230 1250
AAAGAAAATAAATTAAAAAGAGCTACTGTTCTTCATGTACGTACAAAAAATCGAATGAT
K E N K L K R A T V L H V R T K K S N D

1270 1290 1310
TTTATAAATTCAAAGAGTCCAATAAGTATATTGCACTCTATAAAGAAAAATGAGATTTTC
F I N S K S P I S I L H S I K K N E I F

1330 1350 1370
CCGTTGATACCACTATATTAATGGAAATATTCATAAGGAGAACAAAGATAGAAGAAGAG
P F D T T I L N G N I H K E N K I E E E

1390 1410 1430
AAAAATGTGTCTTCATCTACAAAGTATGATGTAAATAATAAGAATAATAAAAAATAATGAT
K N V S S S T K Y D V N N K N N K N N D

1450 1470 1490
AATAGTGAAATTATAAAATATGAAGATATGTTTTCAAAGAGACGTTACAGATATATAT
N S E I I K Y E D M F S K E T F T D I Y

1510 1530 1550
ACAAATGAAATGTTAAATATTTAAAGAAAGATAGAAATATAATATTCCTATCTCCCGCT
T N E M L K Y L K K D R N I I F L S P A

1570 1590 1610
ATGTTAGGAGGATCAGGATTGGTTAAAATTAGTGAGCGTTATCCAAATAATGTATATGAT
M L G G S G L V K I S E R Y P N N V Y D

1630 1650 1670
GTAGGTATAGCAGAACAACATTCTGTAACCTTCGCAGCAGCTATGGCAATGAATAAGAAA
V G I A E Q H S V T F A A A M A M N K K

1690 1710 1730
TTAAAAATACAATTATGTATATATTCGACCTTTTTACAAAGAGCATATGATCAAATTATA
L K I Q L C I Y S T F L Q R A Y D Q I I

1750 1770 1790
CATGATCTTAATTTACAAAATATACCTTTAAAGGTTATAATTGGAAGAAGTGGATTAGTA
H D L N L Q N I P L K V I I G R S G L V

1810 1830 1850
GGAGAGGATGGGGCAACACATCAAGGTATATATGATTTATCTTATCTTGGGACACTTAAC
G E D G A T H Q G I Y D L S Y L G T L N

1870 1890 1910
AATGCATATATAATATCTCCAAGTAATCAAGTTGATTTGAAAAGAGCTCTTAGGTTTGCT
N A Y I I S P S N Q V D L K R A L R F A
1930 1950 1970
TATTTAGATAAGGACCATTCTGTGTATATACGTATACCCAGAATGAACATATTAAGTGAT
Y L D K D H S V Y I R I P R M N I L S D
1990 2010 2030
AAGTACATGAAAGGATATTTGAACATTCATATGAAAAATCAGAGCAAAAATATCGATGTA
K Y M K G Y L N I H M K N E S K N I D V
2050 2070 2090
AACGTGGATATAAACGATGATGTAGATAAATATAGTGAAGAATATATGGACGATGATAAT
N V D I N D D V D K Y S E E Y M D D D N
2110 2130 2150
TTTATAAAATCGTTTATTGGAAAATCTAGAATTATTAAAATGGATAATGAAAATAATAAT
F I K S F I G K S R I I K M D N E N N N
2170 2190 2210
ACAAATGAACATTATTCAAGCAGAGGAGATACACAGACAAAAAAGTTTGTATC
T N E H Y S S R G D T Q T K K K K V C I
2230 2250 2270
TTTAACATGGGTAGTATGCTTTTAAATGTAATTAATGCTATAAAAGAAATTGAAAAAGAA
F N M G S M L F N V I N A I K E I E K E
2290 2310 2330
CAATATATTTACATAATTATTCTTTTTCAATTGTTGATATGATATTTTAAATCCTTTA
Q Y I S H N Y S F S I V D M I F L N P L
2350
GATAAAAATATGATA
D K N M I

FIG.4b Teil 3

1 DEIYKEIYEL YVERNIPEYY ERKYFSEDIK KSVLFDIDKY NDVEFEKAIK
51 EEFINNGVYI NNIDNTYYKK ENILIMKKIL HYFPLLKLIN NPSDLKKLKK
101 QYLPLLAHEL KIFLFFIVNI TGGHFSSVLS SLEIQLLLLLY IFNQPYDNVI
151 YDIGHQAYVH KILTGRKLLF LSLRNKKGIS GFLNIFESYI DKFGAGHSST
201 SLSAIQGYE AEWQVKNKEK YGNGDIEISD NANVTNNERI FQKGIHNDNN
251 INNNINNNNY INPSDVVGRE NTNVPNVRND NHNVDKVHIA IIGDGGLTGG
301 MALEALNYIS FLNSKILIIY NDNGQVSLPT NAVSISGNRP IGSISDHLHY
351 FVSNIEANAG DNKLSKNAKE NNIFENLNYD YIGVVNGNNT EELFKVLNNI
401 KENKLKRATV LHVRTKKSND FINSKSPISI LHSIKKNEIF PFDTTILNGN
451 IHKENKIEEE KNVSSSTKYD VNNKNNKNND NSEIIKYEDM FSKETFDTIY
501 TNEMLKYLKK DRNIIFLSPA MLGGSGLVKI SERYPNNVYD VGIAEQHSVT
551 FAAAMAMNKK LKIQLCIYST FLQRAYDQII HDLNLQNIPL KVIIGRSGLV
601 GEDGATHQGI YDLSYLGTLN NAYIISPSNQ VDLKRALREA YLDKDHVSYI
651 RIPRMNILSD KYMKGYLNIH MKNESKNIDV NVDINDDDVK YSEEYMDDDN
701 FIKSFIGKSR IIKMDNENNN TNEHYSSRGD TQTKKKKVC I FNMGSMLFNV
751 INAIKEIEKE QYISHNYSFS IVDMIFLNPL DKNMI

FIG. 4c

Dosis [mg/kg]	Parasitemie [%]	
	Formyl	Acetyl
300	0.0	0.0
30	0.0	0.0
10	0.0	0.0
5	0.06 ± 0.17	0.0
2	11.7 ± 16.5	0.86 ± 0.44
Kontrolle	65.9 ± 19.1	65.9 ± 19.1

Fig. 5

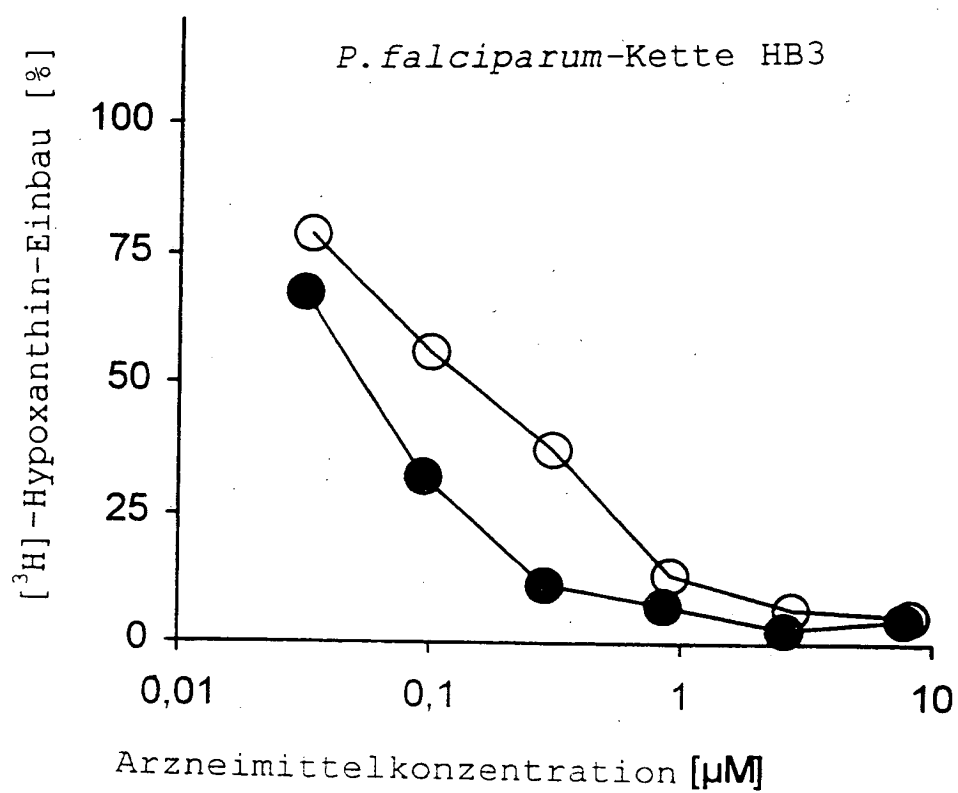


Fig. 6a

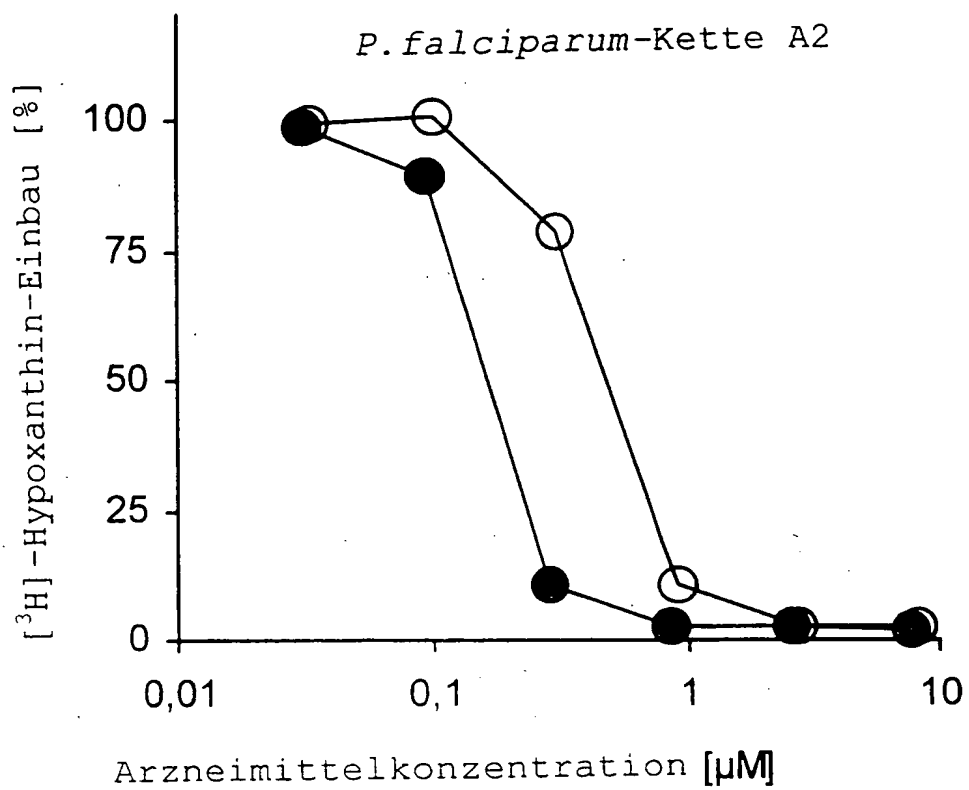


Fig. 6b

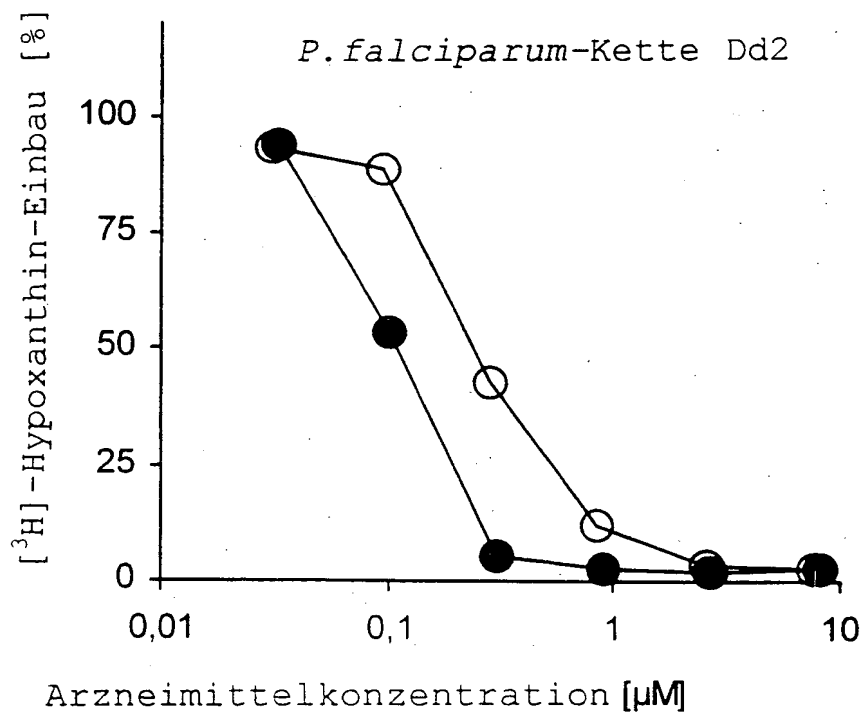
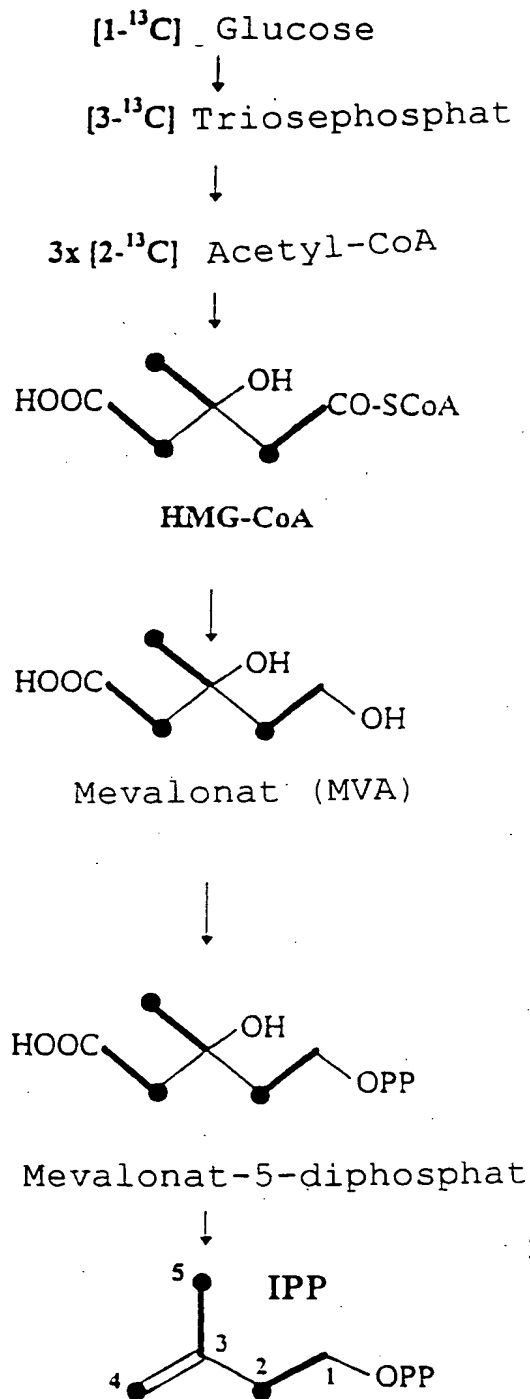


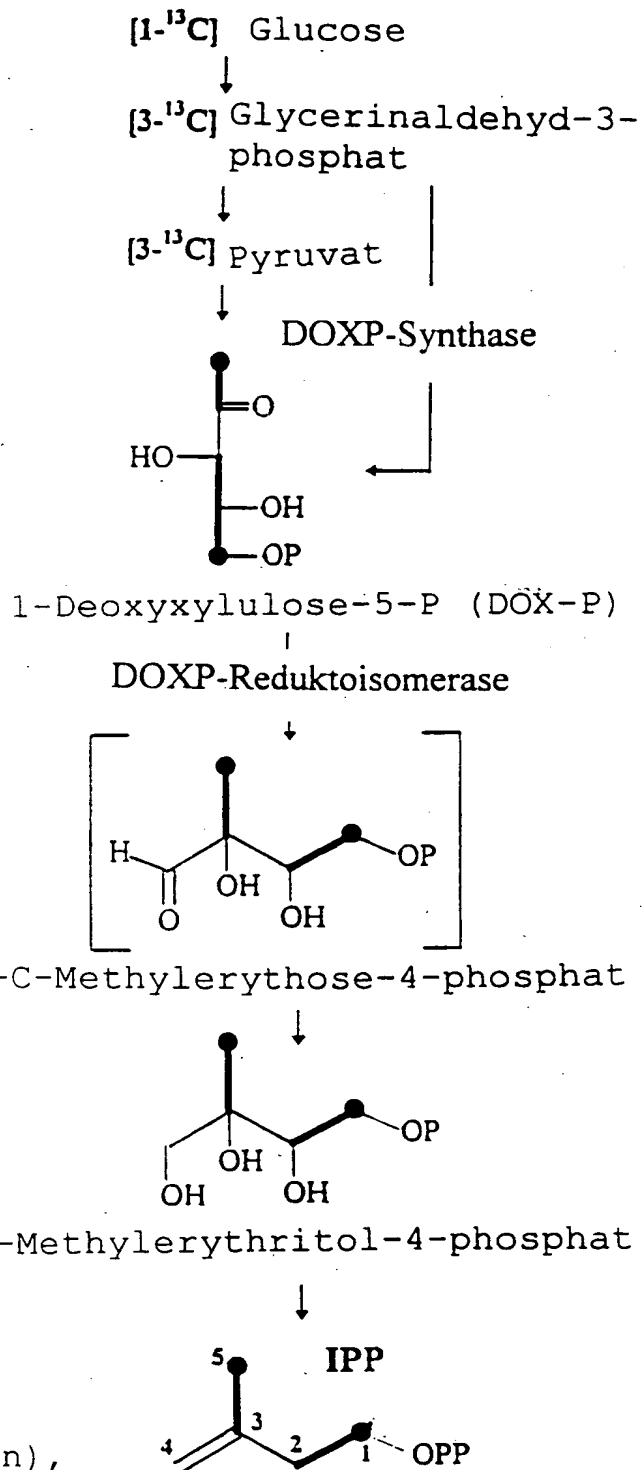
Fig. 6c

Klassischer Acetat/ Mevalonat-Pathway



höhere Pflanzen (Cytoplasmen),
Tiere, Pilze, Eubakterien

Alternativer DOX-P Pathway



höhere Pflanzen (Plastide),
Grünalgen, viele Eubakterien

Fig. 7

Sequenzprotokoll

Anzahl der Sequenzen: 2

(1) ANGABEN ZU SEQUENZ ID NR: 1

Plasmodium falciparum 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatredukto-
isomerase(dxr)gen

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 1467 BASENPAARE

(B) ART: Nukleotidsequenz

(C) STAMM: HB3

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA

(iv) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

(A) ORGANISMUS: Plasmodium falciparum

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: mRNA

(B) LÄNGE: 1...1467

GEN=dxr

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Gen

(B) LÄNGE: 1...1467

GEN=dxr

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LÄNGE: 1...1467

GEN=dxr

FUNKTION: bei der Isopentenylidiphosphatbiosynthese beteiligt
Startcodon: 1

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase

PROTEIN: 488 Aminosäuren

ORGANISMUS: Plasmodium falciparum; (Apicomplexa)

STAMM: HB3

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO:1

ATG AAG AAA TAT ATT TAT ATA TAT TTT TTC TTC ATC ACA ATA ACT ATT	48
Met Lys Lys Tyr Ile Tyr Ile Tyr Phe Phe Phe Ile Thr Ile Thr Ile	
5 10 15	
AAT GAT TTA GTA ATA AAT AAT ACA TCA AAA TGT GTT TCC ATT GAA AGA	96
Asn Asp Leu Val Ile Asn Asn Thr Ser Lys Cys Val Ser Ile Glu Arg	
20 25 30	
AGA AAA AAT AAC GCA TAT ATA AAT TAT GGT ATA GGA TAT AAT GGA CCA	144
Arg Lys Asn Asn Ala Tyr Ile Asn Tyr Glu Ile Glu Tyr Asn Glu Pro	
35 40 45	
GAT AAT AAA ATA ACA AAG AGT AGA AGA TGT AAA AGA ATA AAG TTA TGC	192
Asp Asn Lys Ile Thr Lys Ser Arg Arg Cys Lys Arg Ile Lys Leu Cys	
50 55 60	
AAA AAG GAT TTA ATA GAT ATT GGT GCA ATA AAG AAA CCA ATT AAT GTA	240
Lys Lys Asp Leu Ile Asp Ile Glu Ala Ile Lys Lys Pro Ile Asn Val	
65 70 75 80	
GCA ATT TTT GGA AGT ACT GGT AGT ATA GGT ACG AAT GCT TTA AAT ATA	288
Ala Ile Phe Glu Ser Thr Glu Ser Ile Glu Thr Asn Ala Leu Asn Ile	
85 90 95	
ATA AGG GAG TGT AAT AAA ATT GAA AAT GTT TTT AAT GTT AAA GCA TTG	336
Ile Arg Glu Cys Asn Lys Ile Glu Asn Val Phe Asn Val Lys Ala Leu	
100 105 110	
TAT GTG AAT AAG AGT GTG AAT GAA TTA TAT GAA CAA GCT AGA GAA TTT	384
Tyr Val Asn Lys Ser Val Asn Glu Leu Tyr Glu Gln Ala Arg Glu Phe	
115 120 125	
TTA CCA GAA TAT TTG TGT ATA CAT GAT AAA AGT GTA TAT GAA GAA TTA	432
Leu Pro Glu Tyr Leu Cys Ile His Asp Lys Ser Val Tyr Glu Glu Leu	
130 135 140	
AAA GAA CTG GTA AAA AAT ATA AAA GAT TAT AAA CCT ATA ATA TTG TGT	480
Lys Glu Leu Val Lys Asn Ile Lys Asp Tyr Lys Pro Ile Ile Leu Cys	
145 150 155 160	
GGT GAT GAA GGG ATG AAA GAA ATA TGT AGT AGT AAT AGT ATA GAT AAA	528
Glu Asp Glu Glu Met Lys Glu Ile Cys Ser Ser Asn Ser Ile Asp Lys	
165 170 175	
ATA GTT ATT GGT ATT GAT TCT TTT CAA GGA TTA TAT TCT ACT ATG TAT	576
Ile Val Ile Glu Ile Asp Ser Phe Gln Glu Leu Tyr Ser Thr Met Tyr	
180 185 190	

GCA	ATT	ATG	AAT	AAT	AAA	ATA	GTT	GCG	TTA	GCT	AAT	AAA	GAA	TCC	ATT	624
Ala	Ile	Met	Asn	Asn	Lys	Ile	Val	Ala	Leu	Ala	Asn	Lys	Glu	Ser	Ile	
		195						200				205				
GTC	TCT	GCT	GGT	TTC	TTT	TTA	AAG	AAA	TTA	TTA	AAT	ATT	CAT	AAA	AAT	672
Val	Ser	Ala	Glu	Phe	Phe	Leu	Lys	Lys	Leu	Leu	Asn	Ile	His	Lys	Asn	
		210					215				220					
GCA	AAG	ATA	ATA	CCT	GTT	GAT	TCA	GAA	CAT	AGT	GCT	ATA	TTT	CAA	TGT	720
Ala	Lys	Ile	Ile	Pro	Val	Asp	Ser	Glu	His	Ser	Ala	Ile	Phe	Gln	Cys	
225						230				235					240	
TTA	GAT	AAT	AAT	AAG	GTA	TTA	AAA	ACA	AAA	TGT	TTA	CAA	GAC	AAT	TTT	768
Leu	Asp	Asn	Asn	Lys	Val	Leu	Lys	Thr	Lys	Cys	Leu	Gln	Asp	Asn	Phe	
				245					250					255		
TCT	AAA	ATT	AAC	AAT	ATA	AAT	AAA	ATA	TTT	TTA	TGT	TCA	TCT	GGA	GGT	816
Ser	Lys	Ile	Asn	Asn	Ile	Asn	Lys	Ile	Phe	Leu	Cys	Ser	Ser	Glu	Glu	
			260					265						270		
CCA	TTT	CAA	AAT	TTA	ACT	ATG	GAC	GAA	TTA	AAA	AAT	GTA	ACA	TCA	GAA	864
Pro	Phe	Gln	Asn	Leu	Thr	Met	Asp	Glu	Leu	Lys	Asn	Val	Thr	Ser	Glu	
		275					280					285				
AAT	GCT	TTA	AAG	CAT	CCT	AAA	TGG	AAA	ATG	GGT	AAG	AAA	ATA	ACT	ATA	912
Asn	Ala	Leu	Lys	His	Pro	Lys	Trp	Lys	Met	Glu	Lys	Lys	Ile	Thr	Ile	
		290				295					300					
GAT	TCT	GCA	ACT	ATG	ATG	AAT	AAA	GGT	TTA	GAG	GTT	ATA	GAA	ACC	CAT	960
Asp	Ser	Ala	Thr	Met	Met	Asn	Lys	Glu	Leu	Glu	Val	Ile	Glu	Thr	His	
305					310					315					320	
TTT	TTA	TTT	GAT	GTA	GAT	TAT	AAT	GAT	ATA	GAA	GTT	ATA	GTA	CAT	AAA	1008
Phe	Leu	Phe	Asp	Val	Asp	Tyr	Asn	Asp	Ile	Glu	Val	Ile	Val	His	Lys	
				325					330					335		
GAA	TGC	ATT	ATA	CAT	TCT	TGT	GTT	GAA	TTT	ATA	GAC	AAA	TCA	GTA	ATA	1056
Glu	Cys	Ile	Ile	His	Ser	Cys	Val	Glu	Phe	Ile	Asp	Lys	Ser	Val	Ile	
			340					345					350			
AGT	CAA	ATG	TAT	TAT	CCA	GAT	ATG	CAA	ATA	CCC	ATA	TTA	TAT	TCT	TTA	1104
Ser	Gln	Met	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Met	Gln	Ile	Pro	Ile	Leu	Tyr	Ser	Leu	
		355					360					365				
ACA	TGG	CCT	GAT	AGA	ATA	AAA	ACA	AAT	TTA	AAA	CCT	TTA	GAT	TTG	GCT	1152
Thr	Trp	Pro	Asp	Arg	Ile	Lys	Thr	Asn	Leu	Lys	Pro	Leu	Asp	Leu	Ala	
		370				375					380					
CAG	GTT	TCA	ACT	CTT	ACA	TTT	CAT	AAA	CCT	TCT	TTA	GAA	CAT	TTC	CCG	1200
Gln	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Phe	His	Lys	Pro	Ser	Leu	Glu	His	Phe	Pro	
385					390					395					400	

TGT ATT AAA TTA GCT TAT CAA GCA GGT ATA AAA GGA AAC TTT TAT CCA	1248
Cys Ile Lys Leu Ala Tyr Gln Ala Glu Ile Lys Glu Asn Phe Tyr Pro	
405 410 415	
ACT GTA CTA AAT GCG TCA AAT GAA ATA GCT AAC AAC TTA TTT TTG AAT	1296
Thr Val Leu Asn Ala Ser Asn Glu Ile Ala Asn Asn Leu Phe Leu Asn	
420 425 430	
AAT AAA ATT AAA TAT TTT GAT ATT TCC TCT ATA ATA TCG CAA GTT CTT	1344
Asn Lys Ile Lys Tyr Phe Asp Ile Ser Ser Ile Ile Ser Gln Val Leu	
435 440 445	
GAA TCT TTC AAT TCT CAA AAG GTT TCG GAA AAT AGT GAA GAT TTA ATG	1392
Glu Ser Phe Asn Ser Gln Lys Val Ser Glu Asn Ser Glu Asp Leu Met	
450 455 460	
AAG CAA ATT CTA CAA ATA CAT TCT TGG GCC AAA GAT AAA GCT ACC GAT	1440
Lys Gln Ile Leu Gln Ile His Ser Trp Ala Lys Asp Lys Ala Thr Asp	
465 470 475 480	
ATA TAC AAC AAA CAT AAT TCT TCA TAG	1467
Ile Tyr Asn Lys His Asn Ser Ser	
485	

(2) ANGABEN ZU SEQUENZ ID NR: 2

Plasmodium Falciparum 1-Desoxy-D-Xylulose-5-phosphatsynthase(dxs)gen

(iii) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 3872 BASENPAARE

(B) ART: Nukleotidsequenz

(C) STAMM: HB3

(iv) ART DES MOLEKÜLS: DNA

(v) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

(A) ORGANISMUS: Plasmodium falsiparum

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: mRNA

GEN=dxs

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatsynthase

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Gen

(B) LAGE: 1..3872

GEN=dxs

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

GEN=dxs

FUNKTION: bei der Isopentenylidiphosphatbiosynthese beteiligt
Startcodon: 1

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatsynthase

PROTEIN: 1205 Aminosäuren

ORGANISMUS: Plasmodium falciparum; (Apicomplexa)

STAMM: HB3

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO:2

GGTAATATAC GTATAATATA TATATAATAT ATTCTTACGT ATGTATCATT TATGAATCAT 60

AATAATATTC TAAATTTACC TTCCGTTTTT GCTCGATCTT CTCATTTTCG TTTCAGCTTT 120

TATCA ATG ATT TTT AAT TAT GTG TTT TTT AAG AAC TTT GTA CCA GTT GTT 170
Met Ile Phe Asn Tyr Val Phe Phe Lys Asn Phe Val Pro Val Val
1 5 10 15CTA TAC ATT CTC CTT ATA ATA TAT ATT AAC TTA AAT GGC ATG AAT AAT 218
Leu Tyr Ile Leu Leu Ile Ile Tyr Ile Asn Leu Asn Gly Met Asn Asn
20 25 30AAA AAT CAA ATA AAA ACA GAA AAA ATT TAT ATA AAG AAA TTG AAT AGG 266
Lys Asn Gln Ile Lys Thr Glu Lys Ile Tyr Ile Lys Lys Leu Asn Arg
35 40 45TTG TCA AGG AAA AAT TCG TTA TGT AGT TCT AAA AAT AAA ATA GCA TGC 314
Leu Ser Arg Lys Asn Ser Leu Cys Ser Ser Lys Asn Lys Ile Ala Cys
50 55 60TTG TTC GAT ATA GGA AAT GAT GAT AAT AGA AAT ACG ACA TAT GGC TAT 362
Leu Phe Asp Ile Gly Asn Asp Asp Asn Arg Asn Thr Thr Tyr Gly Tyr
65 70 75AAT GTG AAT GTT AAA AAT GAT GAT ATT AAT TCC TTA CTA AAA AAT AAT 410
Asn Val Asn Val Lys Asn Asp Asp Ile Asn Ser Leu Leu Lys Asn Asn
80 85 90 95TAT AGT AAT AAA TTG TAC ATG GAT AAG AGG AAA AAT ATT AAT AAT GTA 458
Tyr Ser Asn Lys Leu Tyr Met Asp Lys Arg Lys Asn Ile Asn Asn Val
100 105 110

ATT	AGT	ACT	AAT	AAA	ATA	TCT	GGG	TCC	ATT	TCA	AAT	ATT	TGT	AGT	AGA	506
Ile	Ser	Thr	Asn	Lys	Ile	Ser	Gly	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Cys	Ser	Arg	
			115					120					125			
AAT	CAA	AAA	GAA	AAT	GAA	CAA	AAA	AGA	AAT	AAA	CAA	AGA	TGT	TTA	ACT	554
Asn	Gln	Lys	Glu	Asn	Glu	Gln	Lys	Arg	Asn	Lys	Gln	Arg	Cys	Leu	Thr	
		130					135					140				
CAA	TGT	CAC	ACT	TAT	AAT	ATG	TCA	CAT	GAA	CAG	GAC	AAA	CTA	GCT	AAT	602
Gln	Cys	His	Thr	Tyr	Asn	Met	Ser	His	Glu	Gln	Asp	Lys	Leu	Ala	Asn	
	145					150					155					
GAT	AAT	AAT	AGG	AAT	AAT	AAA	AAG	AAT	TTT	AAT	TTA	TTA	TTT	ATA	AAT	650
Asp	Asn	Asn	Arg	Asn	Asn	Lys	Lys	Asn	Phe	Asn	Leu	Leu	Phe	Ile	Asn	
160					165					170					175	
TAT	TTT	AAT	TTG	AAA	CGA	ATG	AAA	AAT	TCT	CTT	CTA	AAT	AAA	GAC	AAT	698
Tyr	Phe	Asn	Leu	Lys	Arg	Met	Lys	Asn	Ser	Leu	Leu	Asn	Lys	Asp	Asn	
			180						185					190		
TTC	TTT	TAC	TGT	AAA	GAA	AAA	AAA	TTG	TCA	TTT	CTG	CAT	AAG	GCC	TAT	746
Phe	Phe	Tyr	Cys	Lys	Glu	Lys	Lys	Leu	Ser	Phe	Leu	His	Lys	Ala	Tyr	
		195						200					205			
AAA	AAA	AAA	AAT	TGC	ACT	TTT	CAA	AAT	TAT	AGT	TTA	AAA	AGA	AAA	TCT	794
Lys	Lys	Lys	Asn	Cys	Thr	Phe	Gln	Asn	Tyr	Ser	Leu	Lys	Arg	Lys	Ser	
		210					215					220				
AAT	CGT	GAT	TCA	CAT	AAA	TTG	TTT	TCT	GGA	GAA	TTT	GAC	GAT	TAT	ACA	842
Asn	Arg	Asp	Ser	His	Lys	Leu	Phe	Ser	Gly	Glu	Phe	Asp	Asp	Tyr	Thr	
	225					230					235					
AAT	AAT	AAT	GCT	TTA	TAT	GAA	TCC	GAA	AAA	AAA	GAA	TAC	ATT	ACA	CTA	890
Asn	Asn	Asn	Ala	Leu	Tyr	Glu	Ser	Glu	Lys	Lys	Glu	Tyr	Ile	Thr	Leu	
240					245					250					255	
AAT	AAT	AAT	AAT	AAA	AAT	AAT	AAT	AAT	AAA	AAT	AAT	GAT	AAT	AAA	AAT	938
Asn	Asn	Asn	Asn	Lys	Asn	Asn	Asn	Asn	Lys	Asn	Asn	Asp	Asn	Lys	Asn	
				260					265					270		
AAT	GAT	AAT	AAT	GAT	TAT	AAT	AAT	AAT	AAT	AGT	TGT	AAT	AAT	TTA	GGA	986
Asn	Asp	Asn	Asn	Asp	Tyr	Asn	Asn	Asn	Asn	Ser	Cys	Asn	Asn	Leu	Gly	
			275					280					285			
GAG	AGA	TCC	AAT	CAT	TAT	GAT	AAT	TAT	GGT	GGA	GAT	AAT	AAT	AAT	CCA	1034
Glu	Arg	Ser	Asn	His	Tyr	Asp	Asn	Tyr	Gly	Gly	Asp	Asn	Asn	Asn	Pro	
		290					295					300				
TGT	AAT	AAT	AAT	AAT	GAC	AAA	TAT	GAT	ATA	GGA	AAA	TAT	TTC	AAA	CAG	1082
Cys	Asn	Asn	Asn	Asn	Asp	Lys	Tyr	Asp	Ile	Gly	Lys	Tyr	Phe	Lys	Gln	
	305					310					315					

ATT AAT ACC TTT ATT AAT ATT GAT GAA TAT AAA ACT ATA TAT GGT GAT Ile Asn Thr Phe Ile Asn Ile Asp Glu Tyr Lys Thr Ile Tyr Gly Asp 320 325 330 335	1130
GAA ATA TAT AAA GAA ATA TAT GAA CTA TAT GTA GAA AGA AAT ATT CCT Glu Ile Tyr Lys Glu Ile Tyr Glu Leu Tyr Val Glu Arg Asn Ile Pro 340 345 350	1178
GAA TAT TAT GAA CGA AAA TAT TTT TCA GAA GAT ATT AAA AAG AGT GTC Glu Tyr Tyr Glu Arg Lys Tyr Phe Ser Glu Asp Ile Lys Lys Ser Val 355 360 365	1226
CTA TTT GAT ATA GAT AAA TAT AAT GAT GTC GAA TTT GAA AAA GCT ATA Leu Phe Asp Ile Asp Lys Tyr Asn Asp Val Glu Phe Glu Lys Ala Ile 370 375 380	1274
AAA GAA GAA TTT ATA AAT AAT GGA GTT TAT ATT AAT AAT ATA GAT AAT Lys Glu Glu Phe Ile Asn Asn Gly Val Tyr Ile Asn Asn Ile Asp Asn 385 390 395	1322
ACA TAT TAT AAA AAA GAA AAT ATT TTA ATA ATG AAA AAG ATA TTA CAT Thr Tyr Tyr Lys Lys Glu Asn Ile Leu Ile Met Lys Lys Ile Leu His 400 405 410 415	1370
TAT TTC CCA TTA TTA AAA TTA ATT AAT AAT CCA TCA GAT TTA AAA AAG Tyr Phe Pro Leu Leu Lys Leu Ile Asn Asn Pro Ser Asp Leu Lys Lys 420 425 430	1418
TTA AAA AAA CAA TAT TTA CCT TTA TTA GCA CAT GAA TTA AAA ATA TTT Leu Lys Lys Gln Tyr Leu Pro Leu Leu Ala His Glu Leu Lys Ile Phe 435 440 445	1466
TTA TTT TTT ATT GTA AAT ATA ACA GGA GGT CAT TTT TCC TCT GTT TTA Leu Phe Phe Ile Val Asn Ile Thr Gly Gly His Phe Ser Ser Val Leu 450 455 460	1514
AGC TCT TTA GAA ATT CAA TTA TTA TTA TTG TAT ATT TTT AAT CAA CCA Ser Ser Leu Glu Ile Gln Leu Leu Leu Leu Tyr Ile Phe Asn Gln Pro 465 470 475	1562
TAT GAT AAT GTT ATA TAT GAT ATA GGA CAT CAA GCA TAT GTA CAT AAG Tyr Asp Asn Val Ile Tyr Asp Ile Gly His Gln Ala Tyr Val His Lys 480 485 490 495	1610
ATA TTG ACC GGA AGA AAA CTA TTA TTT CTA TCA TTA AGA AAT AAA AAA Ile Leu Thr Gly Arg Lys Leu Leu Phe Leu Ser Leu Arg Asn Lys Lys 500 505 510	1658
GGT ATT AGT GGA TTC CTA AAT ATT TTT GAA AGT ATT TAT GAT AAA TTT Gly Ile Ser Gly Phe Leu Asn Ile Phe Glu Ser Ile Tyr Asp Lys Phe 515 520 525	1706

GGG Gly	GCT Ala	GGT Gly	CAC His	AGT Ser	TCC Ser	ACT Thr	TCA Ser	TTA Leu	AGT Ser	GCT Ala	ATA Ile	CAA Gln	GGA Gly	TAT Tyr	TAT Tyr	1754
		530					535					540				
GAA Glu	GCC Ala	GAG Glu	TGG Trp	CAA Gln	GTG Val	AAG Lys	AAT Asn	AAA Lys	GAA Glu	AAA Lys	TAT Tyr	GGA Gly	AAT Asn	GGA Gly	GAT Asp	1802
	545					550					555					
ATA Ile	GAA Glu	ATA Ile	AGT Ser	GAT Asp	AAC Asn	GCA Ala	AAT Asn	GTC Val	ACG Thr	AAT Asn	AAT Asn	GAA Glu	AGG Arg	ATA Ile	TTT Phe	1850
					565					570					575	
CAA Gln	AAA Lys	GGA Gly	ATA Ile	CAC His	AAT Asn	GAT Asp	AAT Asn	AAT Asn	ATT Ile	AAC Asn	AAT Asn	AAT Asn	ATT Ile	AAT Asn	AAT Asn	1898
				580					585					590		
AAT Asn	AAT Asn	TAT Tyr	ATC Ile	AAT Asn	CCT Pro	TCA Ser	GAT Asp	GTG Val	GTA Val	GGA Gly	AGA Arg	GAA Glu	AAT Asn	ACG Thr	AAT Asn	1946
			595					600				605				
GTA Val	CCA Pro	AAT Asn	GTA Val	CGA Arg	AAT Asn	GAT Asp	AAC Asn	CAT His	AAC Asn	GTG Val	GAT Asp	AAA Lys	GTA Val	CAC His	ATT Ile	1994
		610					615					620				
GCT Ala	ATT Ile	ATA Ile	GGA Gly	GAT Asp	GGT Gly	GGT Gly	TTA Leu	ACA Thr	GGT Gly	GGA Gly	ATG Met	GCA Ala	TTA Leu	GAA Glu	GCG Ala	2042
	625				630						635					
TTA Leu	AAT Asn	TAT Tyr	ATT Ile	TCA Ser	TTC Phe	TTG Leu	AAT Asn	TCT Ser	AAA Lys	ATT Ile	TTA Leu	ATT Ile	ATT Ile	TAT Tyr	AAT Asn	2090
					645				650						655	
GAT Asp	AAC Asn	GGA Gly	CAA Gln	GTT Val	TCT Ser	TTA Leu	CCA Pro	ACA Thr	AAT Asn	GCC Ala	GTA Val	AGT Ser	ATA Ile	TCA Ser	GGT Gly	2138
				660					665					670		
AAT Asn	AGA Arg	CCT Pro	ATA Ile	GGT Gly	TCT Ser	ATA Ile	TCA Ser	GAT Asp	CAT His	TTA Leu	CAT His	TAT Tyr	TTT Phe	GTT Val	TCT Ser	2186
			675					680					685			
AAT Asn	ATA Ile	GAA Glu	GCA Ala	AAT Asn	GCT Ala	GGT Gly	GAT Asp	AAT Asn	AAA Lys	TTA Leu	TCG Ser	AAA Lys	AAT Asn	GCA Ala	AAA Lys	2234
		690					695					700				
GAG Glu	AAT Asn	AAC Asn	ATT Ile	TTT Phe	GAA Glu	AAT Asn	TTG Leu	AAT Asn	TAT Tyr	GAT Asp	TAT Tyr	ATT Ile	GGT Gly	GTT Val	GTG Val	2282
	705					710					715					
AAT Asn	GGT Gly	AAT Asn	AAT Asn	ACA Thr	GAA Glu	GAG Glu	CTC Leu	TTT Phe	AAA Lys	GTA Val	TTA Leu	AAT Asn	AAT Asn	ATA Ile	AAA Lys	2330
	720					725				730					735	

GAA AAT AAA TTA AAA AGA GCT ACT GTT CTT CAT GTA CGT ACA AAA AAA	2378
Glu Asn Lys Leu Lys Arg Ala Thr Val Leu His Val Arg Thr Lys Lys	
740 745 750	
TCG AAT GAT TTT ATA AAT TCA AAG AGT CCA ATA AGT ATA TTG CAC TCT	2426
Ser Asn Asp Phe Ile Asn Ser Lys Ser Pro Ile Ser Ile Leu His Ser	
755 760 765	
ATA AAG AAA AAT GAG ATT TTC CCT TTC GAT ACC ACT ATA TTA AAT GGA	2474
Ile Lys Lys Asn Glu Ile Phe Pro Phe Asp Thr Thr Ile Leu Asn Gly	
770 775 780	
AAT ATT CAT AAG GAG AAC AAG ATA GAA GAA GAG AAA AAT GTG TCT TCA	2522
Asn Ile His Lys Glu Asn Lys Ile Glu Glu Glu Lys Asn Val Ser Ser	
785 790 795	
TCT ACA AAG TAT GAT GTA AAT AAT AAG AAT AAT AAA AAT AAT GAT AAT	2570
Ser Thr Lys Tyr Asp Val Asn Asn Lys Asn Asn Lys Asn Asn Asp Asn	
800 805 810 815	
AGT GAA ATT ATA AAA TAT GAA GAT ATG TTT TCA AAA GAG ACG TTC ACA	2618
Ser Glu Ile Ile Lys Tyr Glu Asp Met Phe Ser Lys Glu Thr Phe Thr	
820 825 830	
GAT ATA TAT ACA AAT GAA ATG TTA AAA TAT TTA AAG AAA GAT AGA AAT	2666
Asp Ile Tyr Thr Asn Glu Met Leu Lys Tyr Leu Lys Lys Asp Arg Asn	
835 840 845	
ATA ATA TTC CTA TCT CCC GCT ATG TTA GGA GGA TCA GGA TTG GTT AAA	2714
Ile Ile Phe Leu Ser Pro Ala Met Leu Gly Gly Ser Gly Leu Val Lys	
850 855 860	
ATT AGT GAG CGT TAT CCA AAT AAT GTA TAT GAT GTA GGT ATA GCA GAA	2762
Ile Ser Glu Arg Tyr Pro Asn Asn Val Tyr Asp Val Gly Ile Ala Glu	
865 870 875	
CAA CAT TCT GTA ACT TTC GCA GCA GCT ATG GCA ATG AAT AAG AAA TTA	2810
Gln His Ser Val Thr Phe Ala Ala Ala Met Ala Met Asn Lys Lys Leu	
880 885 890 895	
AAA ATA CAA TTA TGT ATA TAT TCG ACC TTT TTA CAA AGA GCA TAT GAT	2858
Lys Ile Gln Leu Cys Ile Tyr Ser Thr Phe Leu Gln Arg Ala Tyr Asp	
900 905 910	
CAA ATT ATA CAT GAT CTT AAT TTA CAA AAT ATA CCT TTA AAG GTT ATA	2906
Gln Ile Ile His Asp Leu Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Val Ile	
915 920 925	
ATT GGA AGA AGT GGA TTA GTA GGA GAG GAT GGG GCA ACA CAT CAA GGT	2954
Ile Gly Arg Ser Gly Leu Val Gly Glu Asp Gly Ala Thr His Gln Gly	
930 935 940	

ATA TAT GAT TTA TCT TAT CTT GGG ACA CTT AAC AAT GCA TAT ATA ATA	3002
Ile Tyr Asp Leu Ser Tyr Leu Gly Thr Leu Asn Asn Ala Tyr Ile Ile	
945 950 955	
TCT CCA AGT AAT CAA GTT GAT TTG AAA AGA GCT CTT AGG TTT GCT TAT	3050
Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Ala Tyr	
960 965 970 975	
TTA GAT AAG GAC CAT TCT GTG TAT ATA CGT ATA CCC AGA ATG AAC ATA	3098
Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met Asn Ile	
980 985 990	
TTA AGT GAT AAG TAC ATG AAA GGA TAT TTG AAC ATT CAT ATG AAA AAT	3146
Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Lys Asn	
995 1000 1005	
GAG AGC AAA AAT ATC GAT GTA AAC GTG GAT ATA AAC GAT GAT GTA GAT	3194
Glu Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val Asp	
1010 1015 1020	
AAA TAT AGT GAA GAA TAT ATG GAC GAT GAT AAT TTT ATA AAA TCG TTT	3242
Lys Tyr Ser Glu Glu Tyr Met Asp Asp Asp Asn Phe Ile Lys Ser Phe	
1025 1030 1035	
ATT GGA AAA TCT AGA ATT ATT AAA ATG GAT AAT GAA AAT AAT AAT ACA	3290
Ile Gly Lys Ser Arg Ile Ile Lys Met Asp Asn Glu Asn Asn Asn Thr	
1040 1045 1050 1055	
AAT GAA CAT TAT TCA AGC AGA GGA GAT ACA CAG ACA AAA AAA AAA AAA	3338
Asn Glu His Tyr Ser Ser Arg Gly Asp Thr Gln Thr Lys Lys Lys Lys	
1060 1065 1070	
GTT TGT ATC TTT AAC ATG GGT AGT ATG CTT TTT AAT GTA ATT AAT GCT	3386
Val Cys Ile Phe Asn Met Gly Ser Met Leu Phe Asn Val Ile Asn Ala	
1075 1080 1085	
ATA AAA GAA ATT GAA AAA GAA CAA TAT ATT TCA CAT AAT TAT TCT TTT	3434
Ile Lys Glu Ile Glu Lys Glu Gln Tyr Ile Ser His Asn Tyr Ser Phe	
1090 1095 1100	
TCA ATT GTT GAT ATG ATA TTT TTA AAT CCT TTA GAT AAA AAT ATG ATA	3482
Ser Ile Val Asp Met Ile Phe Leu Asn Pro Leu Asp Lys Asn Met Ile	
1105 1110 1115	
GAT CAT GTA ATA AAA CAA AAT AAA CAT CAA TAT TTA ATT ACT TAT GAA	3530
Asp His Val Ile Lys Gln Asn Lys His Gln Tyr Leu Ile Thr Tyr Glu	
1120 1125 1130 1135	
GAT AAT ACT ATA GGT GGT TTT TCT ACA CAT TTC AAT AAT TAT TTA ATA	3578
Asp Asn Thr Ile Gly Gly Phe Ser Thr His Phe Asn Asn Tyr Leu Ile	
1140 1145 1150	

GAA AAT AAT TAT ATT ACA AAA CAT AAC TTA TAT GTT CAT AAT ATT TAT 3626
Glu Asn Asn Tyr Ile Thr Lys His Asn Leu Tyr Val His Asn Ile Tyr
1155 1160 1165

TTA TCT AAT GAG CCA ATT GAA CAT GCA TCT TTT AAG GAT CAA CAA GAA 3674
Leu Ser Asn Glu Pro Ile Glu His Ala Ser Phe Lys Asp Gln Gln Glu
1170 1175 1180

GTC GTC AAA ATG GAT AAA TGT AGT CTT GTC AAT AGA ATT AAA AAT TAT 3722
Val Val Lys Met Asp Lys Cys Ser Leu Val Asn Arg Ile Lys Asn Tyr
1185 1190 1195

CTT AAA AAT AAT CCT ACA TGA TGTAAGATAA ATATATATTT CTAAAATTAT 3773
Leu Lys Asn Asn Pro Thr -
1200 1205

TTTTTTTTTTA TACTTTAATG TGTACAATAA AATATATATC TAAATATATT TTATTTGTAC 3833

GCTTTTTTTTTT TTTTTTTTTT AATTGTTATT TTTGTATAT 3872